

BEDEUTUNG DER POLYMORPHIE
DES BETAMETHASONACETATS FÜR DIE
GALENISCHE QUALITÄT UND STABILITÄT
VON PARENTERAL APPLIZIERBAREN
KRISTALLSUSPENSIONEN

von

Erhard Seiller

aus Bamberg

Diss. Erlangen
1904

108/307

BEDEUTUNG DER POLYMORPHIE DES BETAMETHASONACETATS FÜR DIE GALENISCHE QUALITÄT UND STABILITÄT VON PARENTERAL APPLIZIERBAREN KRISTALLSUSPENSIONEN

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Erhard Seiller
aus Bamberg

Als Dissertation genehmigt von den
Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität
Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Mai 1984

Vorsitzender der

Promotionskommission : Professor Dr. K. Jacobs

Erstberichterstatter : Professor Dr. E. Nürnberg

Zweitberichterstatter : Professor Dr. G. Wedler

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Januar 1980 bis Februar 1984 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie, der Universität Erlangen-Nürnberg angefertigt.

Meinem sehr verehrten akademischen Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Nürnberg, danke ich für die Überlassung des Themas sowie die vielen wertvollen Anregungen und Diskussionen zur Durchführung der Arbeit.

Der Fa. Werthenstein Chemie in Schachen/Schweiz gilt mein besonderer Dank für die großzügige Bereitstellung von Beta-methasonacetat. Herrn Dr. U.E. Matter möchte ich darüber hinaus für wertvolle Diskussionen und sein Interesse an der Arbeit danken.

Der Fa. E. Merck in Darmstadt, insbesondere Herrn Dr. F. Loebich, danke ich für die Überlassung von Vergleichssubstanzen.

Innerhalb der Universität gilt mein Dank:

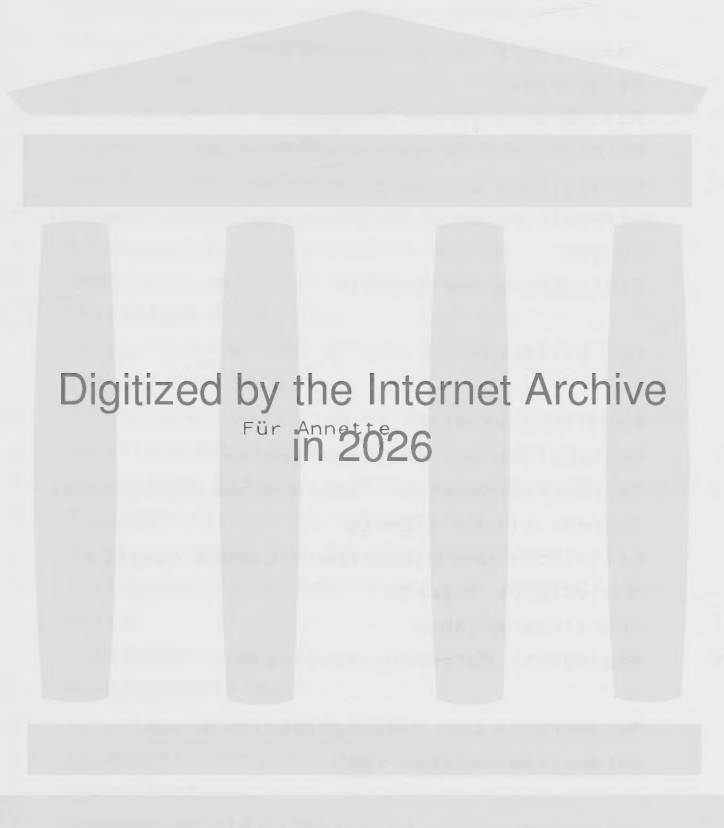
Herrn Dr. Hahn und Herrn Gillich, Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie, für die Anfertigung von IR-Spektren;
Frau Schuster, Institut für Werkstoffwissenschaften, für die gewissenhafte Anfertigung der REM-Aufnahmen.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Pharmazeutische Technologie danke ich für die gute Zusammenarbeit und fruchtbare Diskussionen. Besonders sei dabei Herrn Dr. D. Schenk für mannigfaltige Hilfsbereitschaft und die stets prompte Optimierung von Rechnerprogrammen und Frä. L. Schedl für die Ausführung fotografischer Arbeiten gedankt.

Schließlich möchte ich mich bei Frau K. Gast herzlich für die geduldige und gewissenhafte Ausführung der Schreibarbeiten bedanken.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Warenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären.

Nach dem Gesetz über die Einheiten im Meßwesen vom 2.7.1969, geändert am 6.7.1973, ist die offizielle Einheit für Temperaturangaben Kelvin (K). Zum besseren Verständnis sind im Text die Werte der Celsiusskala in Klammern beigelegt.



Digitized by the Internet Archive
Für Annette
in 2026

https://archive.org/details/IA41546206_0016

Inhaltsverzeichnis

1.	<u>Einleitung und Zielsetzung</u>	1
1.1.	Polymorphie von Arzneistoffen	1
1.1.1.	Allgemeines	1
1.1.2.	Polymorphie in der Pharmazie	2
1.1.3.	Methoden der Polymorphieforschung	4
1.1.4.	Herstellung polymorpher Formen	5
1.2.	Kristallwachstum in pharmazeutischen Zubereitungen	7
1.3.	Zielsetzung der Arbeit	8
2.	<u>Der Wirkstoff</u>	11
2.1.	Chemische Aspekte	11
2.1.1.	Entwicklung der Corticosteroide	11
2.1.2.	Betamethasonacetat: Chemie-Arzneibuchangaben	12
2.2.	Therapeutische Aspekte	15
2.3.	Galenische und biopharmazeutische Aspekte	17
2.4.	Analytische Aspekte	19
2.4.1.	Arzneibuchangaben	19
2.4.2.	Angewandte Polymorphieanalytik	20
3.	<u>Polymorphie und Pseudopolymorphie von Betamethasonacetat (BA)</u>	21
3.1.	Untersuchung von handelsüblichem Ausgangsmaterial (H)	21
3.1.1.	Differentialthermoanalyse als bevorzugte Analysenmethode	22
3.1.2.	Untersuchung des Ausgangsmaterials H	25
3.2.	Gewinnung von BA-Ausgangsmaterial	30
3.3.	Vergleich mit Dexamethasonacetat	31

3.3.1.	Differentialthermoanalyse	31
3.3.2.	Herstellung	32
3.3.3.	HPLC-Trennverfahren	33
3.4.	Herstellung definierter BA-Modifikationen	36
3.4.1.	Gewinnung aus verschiedenen Lösungsmitteln	36
3.4.1.1.	BA aus Suspensionen	36
3.4.1.2.	BA-Kristalle aus Lösungen	39
3.4.1.3.	Einfluß der Kristallisationsbedingungen	41
3.4.1.4.	Ergebnis der Kristallisationsversuche	46
3.4.2.	Ausfällungen in Wasser	46
3.4.2.1.	Bedeutung des organischen Lösungsmittels	48
3.4.2.2.	Bedeutung des Trocknungsprozesses	51
3.4.2.3.	Bedeutung weiterer Fällungsparameter	53
3.4.3.	Thermische Einflüsse	54
3.4.3.1.	Interpretation des ersten endothermen DTA-Signals von BA-H	54
3.4.3.2.	Interpretation des weiteren DTA-Kurvenverlaufs	56
3.4.3.3.	Untersuchung zum dritten endothermen Signal	57
3.4.3.4.	Thermische Effekte auf neu gewonnene BA-Produkte	59
3.4.3.5.	Zusammenfassung von Kapitel 3.4.3.	62
3.4.4.	Sprühtrocknung von Betamethasonacetat	63
3.5.	Tribomechanische Behandlung von Betamethasonacetat	66
3.5.1.	Trockenmahlung	66
3.5.1.1.	Ausgangsmaterial H	67
3.5.1.2.	I α -, I β - und amorphe Form	69
3.5.1.3.	Zusammenfassung zur Trockenmahlung	73
3.5.2.	Naßmahlung	73
3.5.2.1.	Ausgangsmaterial H	74
	Trocknung in der DTA-Apparatur	75
	Überlegung zur reinen Modifikation II	80
3.5.2.2.	I α -, I β - und amorphe Form	82
3.6.	Diskussion zu den Kapiteln 3.4 und 3.5	84
3.7.	Stabilität der BA-Modifikationen	90
3.7.1.	Lagerung der BA-Substanzen	90

3.7.1.1.	Ausfällungsprodukte	90
3.7.1.2.	I α - und I β -Modifikation	92
3.7.1.3.	Amorphes BA	93
3.7.1.4.	Zusammenfassung	95
3.7.2.	Lagerung wäßriger BA-Suspensionen	96
3.7.2.1.	Ausgangssubstanz H und reine Modifikationen	96
3.7.2.2.	Modifikationsgemische mit I α -Form	98
3.7.2.3.	Amorphes BA	99
3.7.2.4.	Zusammenfassung	99
3.8.	Weitere physikalische Untersuchungen	102
3.8.1.	Röntgenbeugungsuntersuchungen	102
3.8.1.1.	Ausgangsmaterial H	104
3.8.1.2.	Andere BA-Ausgangssubstanzen	108
3.8.2.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	115
3.8.3.	Polarisationsmikroskopische Untersuchungen	120
3.8.4.	Infrarotspektroskopische Untersuchungen	123
3.8.5.	Thermogravimetrie	126
3.9.	Hydrat- bzw. Solvatbildung bei Betamethason-	
	acetat	130
3.9.1.	Solvate	130
3.9.2.	Hydrate	130
3.9.2.1.	Herstellung eines BA-Hydrates	130
3.9.2.2.	Charakterisierung des Hydrates	131
3.9.2.3.	Überlegungen zur Hydratbildung	137
3.10.	Ausgewählte vergleichende Untersuchungen an	
	Dexamethasonacetat	139
4.	<u>BA-Suspensionen / Galenische Aspekte</u>	142
4.1.	Auswahl von Hilfsstoffen	143
4.2.	Untersuchungen zur Eignung von BA-Schmelzein-	
	bettungen	144
4.3.	Netzmittel- und Kolloideinfluß auf die Qualität	
	verschiedener BA-Suspensionen	146

4.3.1.	Zusatz von Polysorbat 80	146
4.3.1.1.	Prüfung der Suspensionen	146
4.3.1.2.	Vergleich mit einer tensidfreien BA-H-Suspension	149
4.3.2.	Zusatz von Polyvinylpyrrolidon (PVP) und Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)	150
4.3.2.1.	Kristallwachstum in PVP 17-haltigen Präparaten	151
4.3.2.2.	Kristallwachstum in HPMC E5-haltigen Präparaten	153
4.3.3.	Kristallwachstum von BA-Hydrat bei erhöhter Lagertemperatur	156
4.4.	Andere verfahrenstechnische Maßnahmen zur Entwicklung einer parenteral applizierbaren BA-Kristallsuspension	158
4.4.1.	Ausfällungen von BA in Kolloidlösungen	159
4.4.2.	Sprühtrocknung von BA-Ausfällungen in Kolloidlösungen	161
4.4.3.	BA-Sprüheinbettungen in Kolloide	164
4.5.	Diskussion zur Eignung von Hilfsstoffen und Herstellungstechnik für BA-Kristallsuspensionen	166
5.	<u>Betrachtungen zur Löslichkeit verschiedener BA-Kristallformen</u>	168
5.1.	Modifikationsumwandlungen während der Suspensionierung in Wasser	168
5.2.	Bestimmung des gelösten BA-Anteils in Suspensionen	169
5.2.1.	Bestimmung der Löslichkeit von BA-Formen in wässrigen Suspensionen	169
5.2.2.	Löslichkeitsprofile ausgewählter BA-Formen	171
6.	<u>Entwicklung einer BA-Kristallsuspension zur Injektion</u>	174
6.1.	Entwicklung der Suspensionsgrundlage	174

6.2.	Einarbeitung bestimmter BA-Formen in die Grundlage	177
6.3.	BA-Hydrat-Kristallsuspension	178
6.3.1.	Herstellungsvorschrift für die Suspension	178
6.3.2.	Prüfung der Suspension	181
7.	<u>Zusammenfassung</u>	182
8.	<u>Anhang</u>	185
8.1.	Angewandte Methoden	185
8.1.1.	Differentialthermoanalyse	185
8.1.2.	Röntgendiffraktometrie	185
8.1.3.	Rasterelektronenmikroskopie	187
8.1.4.	Polarisationsmikroskopie	187
8.1.5.	Infrarotspektroskopie	187
8.1.6.	Thermogravimetrie	188
8.1.7.	Hochdruckflüssigkeitschromatographie	188
8.1.8.	Sprühtrocknung	189
8.1.9.	Mahlung	189
8.1.10.	Löslichkeitsbestimmung	190
8.2.	Verwendete Materialien	190
	Literaturverzeichnis	192
	Lebenslauf	

1. Einleitung und Zielsetzung

1.1. Polymorphie von Arzneistoffen

1.1.1. Allgemeines

Wenn ein Galeniker die Aufgabe erhält, einen vorgegebenen Arzneistoff in die therapeutisch gewünschte Arzneiform zu überführen, so wird er heute grundsätzlich auch die Frage nach dem Auftreten polymorpher Modifikationen chemisch definierter Wirksubstanzen stellen müssen. Bereits 1957 vermutete Mc CRONE (1), daß alle organischen Substanzen in einer Reihe polymorpher Zustände existieren müßten. Deren aufgefundene Zahl stelle nur ein Maß für die Sorgfalt dar, mit der man diese Substanzen bearbeitet habe.

HALEBLIAN und Mc CRONE (2) verstehen unter Polymorphie die Erscheinung, daß eine chemisch definierte Verbindung im festen Zustand mindestens zwei verschiedene Strukturtypen - Modifikationen - besitzen kann, wobei die Moleküle aber chemisch identisch sind. Nach diesen Autoren werden die Veränderungen in der Molekularstruktur durch Polarisierbarkeitseffekte zwischen den Molekülen hervorgerufen, die auf eine veränderte relative Lage der angrenzenden Moleküle in unterschiedlichen Kristallstrukturen zurückzuführen sind. Bei der rein chemischen Analyse wird daher das Auftreten polymorpher Strukturen nicht erfaßt, so daß die Beobachtung derartiger Veränderungen mit der Verbreitung spezieller physikalischer Untersuchungsverfahren eng verknüpft war.

Streng abzugrenzen ist die Polymorphie von solchen differenten Zuständen, die durch dynamische Isomerie und Tautomerie hervorgerufen werden, da diese ja zu unterschiedlichen Molekülen führen. Folgt man einer Definition von BURGER (3), so beschränkt sich der Begriff Polymorphie auf Unterschiede in Packung, Anordnung usw. desselben Moleküls im Kristallgitter. Demzufolge wer-

den heute auch solvatisierte und hydratisierte Kristalle - die ja eine andere chemische Zusammensetzung aufweisen - unter der Bezeichnung Pseudopolymorphie beschrieben. Glasartige oder sonstige "gestaltlose" Erscheinungsformen werden als amorphe Produkte gekennzeichnet. Außerdem gibt es Ordnungszustände, die als parakristallin bezeichnet werden (4), wie sie z.B. von DÖLLE für Digoxin dargestellt und beschrieben wurden (5). Nimmt man auch diese Möglichkeit hinzu, so erkennen wir, daß eine polymorphe Modifikation nur eine der verschiedenen Formen ist, in der eine Substanz im Aggregationszustand "fest" vorkommen kann.

Die Entdeckung der Polymorphie wird im allgemeinen MITSCHERLICH zugeschrieben, der 1821 nachwies, daß Natriumphosphatmonohydrat in zwei verschiedenen Formen auftritt (6), doch könnte man auch KLAPROTHS Entdeckung 1788 der chemischen Identität von Kalkspat und Aragonit oder DAVYS Feststellung 1809, daß Graphit und Diamant nur unterschiedliche Anordnungen von Kohlenstoffatomen darstellen, ebenso als erste Polymorphiebeschreibungen - bei Atomen auch Allotropie genannt - bezeichnen. Für die organische Chemie wurde ein polymorphes Erscheinungsbild erstmals 1832 am Benzamid von LIEBIG und WÖHLER nachgewiesen (7).

1.1.2. Polymorphie in der Pharmazie

Die Bedeutung der Polymorphie für die pharmazeutische Wissenschaft erkannte KÖFLER bereits etwa 1930 und seitdem wird dieses Forschungsgebiet intensiv in der von ihm begründeten Innsbrucker Schule betrieben. In den USA wird diese Entwicklung verstärkt seit Beginn der 60er Jahre aufgegriffen und vor allem von HALEBLIAN und McCRONE vorangetrieben. Seit dieser Zeit erschienen auch immer wieder Übersichtsarbeiten über die Bedeutung der Polymorphie und ihre Anwendung in der Pharmazie (2,3,8-11).

Daß gerade der Galeniker mit dem Problem der Polymorphie oder Pseudopolymorphie konfrontiert ist, hängt u.a. damit zusammen,

daß bestimmte Modifikationen zu gravierenden Unterschieden der therapeutischen Wirkung führen. Z.B. wurde beim Einsatz von Chloramphenicolpalmitatsuspensionen von AGUIAR et al. (12) nachgewiesen, daß nur der Einsatz der metastabilen Form B nach oraler Applikation zu wirksamen Blutspiegeln führte, während die stabile Form A nur ein Siebtel der Plasmakonzentration ergibt. Polymorphiebedingte Schwierigkeiten können aber auch bei der Verarbeitung von Hilfs- und Wirkstoffen zu Arzneiformen auftreten, wie dies ja von Triglyceriden bei der Suppositorienherstellung bekannt ist (13); außerdem kann es durch Modifikationsumwandlung bzw. Solvat- oder Hydratbildung zu unerwünschtem Kristallwachstum während der Lagerung kommen (14,15,16).

Polymorphie tritt bei den verschiedensten pharmazeutischen Verbindungsklassen auf und wurde im Laufe der vergangenen Jahre vor allem an folgenden Wirkstoffgruppen näher untersucht:

Steroide
 Barbiturate
 Sulfonamide
 Antihistaminika
 Penicillin-Antibiotika

Auch an anderen Substanzen wurden diese Phänomene nachgewiesen. Eine vollständige Literaturübersicht zu geben, würde hier zu weit führen; so seien nur einige Arbeiten erwähnt, die dieses Phänomen bei Steroidhormonen beschreiben (11,14,16-26,53,81,91).

Wenn man die Vielzahl der Fälle, in denen mehrere Modifikationen bei etablierten Arzneistoffen auftreten, berücksichtigt, verwundert es, daß in den wichtigeren Arzneibüchern Europas und der USA die Polymorphie bisher noch kaum als Identifizierungs- oder Verwendungskriterium genutzt wird. Lediglich das ÖAB (27) enthält im allgemeinen Teil Aussagen über Polymorphie und Hydrate.

Daß diesem Phänomen auch von Seiten der Arzneibuchkommission größere Bedeutung geschenkt werden sollte, mag eine Recherche von BURGER (28) verdeutlichen, nach der schon 1978 von den 162

In die Ph.Eur. aufgenommenen festen Substanzen ca. zwei Drittel mit mindestens zwei Kristallgitterstrukturen auftraten.

1.1.3. Methoden der Polymorphieforschung

Wie schon eingangs erwähnt (1), hängt es zwar in gewisser Weise von dem Maß der aufgewendeten Sorgfalt ab, wieviele verschiedene Modifikationen von einer chemisch definierten Substanz aufgefunden werden können, jedoch spielen auch die analytischen und apparativen Möglichkeiten eine wesentliche Rolle. Die Analysenmethoden hängen nicht zuletzt auch von den dominierend auftretenden physikalischen Veränderungen des Arzneistoffes ab. Hier spielen vor allem die folgenden Parameter eine Rolle:

- Löslichkeit
- Dichte
- Schmelzverhalten
- Dampfdruck
- Kristallstruktur
- Härte
- optische und elektrische Eigenschaften
- Oberflächenspannung
- etc.

Sie können für die Verarbeitung, die Stabilität und die therapeutische Wirkung der Präparate entscheidende Bedeutung besitzen. Bei genauem Studium und bewußtem Einsatz einzelner Kristallmodifikationen dürften dann unerwünschte Eigenschaften, wie z. B. Kristallwachstum, gezielt vermieden werden (15,16). Spezielle, zum Teil sogar unkonventionelle technologische Maßnahmen, wie z.B. eine thermisch induzierte Feinstzerkleinerung aufgrund von Dichteunterschieden (2), können zum Einsatz kommen.

Die Identifizierung unterschiedlicher poly- und pseudopolymorpher Phasen kann mit einer ganzen Reihe von Methoden durchge-

führt werden (2,3,10,22,29-35), die ausführlich in der Literatur beschrieben sind und von denen ich hier ohne nähere Erläuterung und ohne Anspruch auf Vollständigkeit die wichtigsten aufführen möchte:

Polarisationsmikroskopie, -heizmikroskopie
 Elektronenmikroskopie
 Röntgenbeugungsanalyse
 Thermoanalyse - Thermogravimetrie
 Differentialthermoanalyse
 Differentialcalorimetrie
 Infrarotspektroskopie
 Kernresonanzspektroskopie
 Dilatometrie
 Pyknometrie
 Refraktometrie
 Leitfähigkeitsmessung
 Löslichkeitsbestimmung

Fast alle aufgeführten Methoden sind im Prinzip schon allein geeignet, zwischen verschiedenen Zustandsformen zu unterscheiden, es erscheint jedoch sinnvoller - vor allem bei nur geringen Unterschieden der Analysenergebnisse oder bei Beleuchtung bestimmter Aspekte - mehrere Verfahren zu kombinieren (3,36). Welche dies im Einzelfall sein mögen, hängt von der apparativen Ausstattung und dem gestellten Analysenproblem ab (11).

1.1.4. Herstellung polymorpher Formen

Um Polymorphieforschung nicht nur analytisch betreiben zu müssen, sollte man auch in der Lage sein, gezielt bestimmte Kristallstrukturen durch definierte Herstellungsverfahren zu erzeugen. Auch hierzu kann man in der Literatur eine Reihe von Angaben finden (2,5,10,11,37,38,39). So vielfältig die Unterschei-

dungsmöglichkeiten der einzelnen Modifikationen sind, so zahlreich sind auch die Wege, auf denen man zu ihnen gelangen kann.

Die wohl häufigste Methode, definierte Modifikationen zu erhalten, ist die gezielte Kristallisation (10). Daneben kann man noch andere Verfahren einsetzen, die von Fall zu Fall auch durchaus praktische Relevanz haben können. So werden z.B. durch Sprühtrocknung metastabile, amorphe Produkte erhalten (90,97), die sich durch die Fähigkeit zur Ausbildung zumindest vorübergehend übersättigter Lösungen auszeichnen. Durch Ausfällen einer in organischem Lösungsmittel gelösten Substanz in Wasser ist die Gewinnung definierter Hydrate möglich (16). Weiterhin kann man beispielsweise durch Tempern eines Feststoffes auf neue Modifikationen stoßen (38) oder durch tribomechanische Behandlung die Kristallstrukturen verändern (5). Eine Zusammenstellung der wichtigsten Verfahren sei im folgenden aufgeführt:

- Kristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln
- Kristallisation aus der Schmelze
- Kristallisation aus der Dampfphase
- Ausfällung in einem Nicht-Lösungsmittel
- Sprühtrocknung
- Thermotrope Umwandlung
- Mechanische Belastung - Mahlprozeß
 - Druckenwendung

Wenn man berücksichtigt, daß bei der Herstellung einer Arzneiform aus dem Wirkstoff eine Folge verfahrenstechnischer Maßnahmen notwendig ist, so ist es verständlich, daß - insbesondere thermisch und mechanisch induzierte - Modifikationsänderungen auftreten können. So wird z.B. zweckmäßig die Kristallisation mit einem Mahlprozeß kombiniert werden, wenn man die Kristalle in eine Suspensionssalbe oder eine Kristallsuspension einarbeiten will. Deshalb ist es in vielen Fällen nötig, auch Zwischenprodukte auf ihren physikalischen Zustand hin zu überprüfen.

1.2. Kristallwachstum in pharmazeutischen Zubereitungen

Die für den pharmazeutischen Technologen wohl häufigste unerwünschte Erscheinung der Polymorphie ist das bei Lagerung auftretende Kristallwachstum in der Arzneizubereitung infolge von Modifikationsumwandlung oder Solvat- bzw. Hydratbildung des eingesetzten Stoffes. Während dieser Effekt in festen Arzneiformen bei sachgemäßer Lagerung nur eine untergeordnete Rolle spielt, fällt er dagegen bei lösungsmittelhaltigen Arzneiformen wie z.B. Salben, Cremes oder Suspensionen entscheidend ins Gewicht.

Neben der Modifikationsumwandlung oder einer pseudopolymorphen Hydrat- bzw. Solvatbildung spielen u.a. temperaturabhängige Lösungs- und Ausfällungsprozesse (40,41), Hilfsstoff-Wirkstoffwechselwirkungen (40,41,42,43,44) oder auch der Übersättigungsgrad (45) eine erhebliche Rolle bei der Kristallwachstumstendenz und -geschwindigkeit in den o.g. Arzneizubereitungen. Bei der Einarbeitung eines polymorphen Stoffes muß zusätzlich die Frage nach der Umwandlungstendenz in dem ihm dargebotenen Milieu bzw. die Möglichkeit des Einsatzes der dort stabilsten Kristallform geprüft werden.

Kristallwachstum infolge von Phasenumwandlungen (2,14,46) oder Bildung von pseudopolymorphen Hydraten (15,16,47,48) ist in der Vergangenheit u.a. an Theophyllin, Fluprednylidenacetat, Prednisolon beschrieben worden. Gleichermaßen ist dabei die Verhinderung des Wachstums ein Anliegen gewesen. Hierzu machte man sich vor allem den seit längerem bekannten Effekt der Kristallwachstumsinhibierung durch Makromoleküle zunutze (44,48,50). In bestimmten Fällen kann dieser Hemmeffekt auf eine Phasenumwandlung, wie MUCKENSCHNABEL am Beispiel des Fluprednylidenacetat-Hydrates zeigen konnte (16), vom gezielten Einsatz einer stabilen Kristallform noch übertroffen werden.

Teilchengrößenlimitierungen in Arzneiformen gibt es mit Ausnahme der DAB 8-Vorschrift für Augensalben (51) und den Angaben über Verreibungen nach HAB 1 (120) in den für die Bundesrepublik Deutschland gültigen Arzneibüchern nicht. Jedoch sollten

z.B. bei Suspensionssalben die Teilchengrößen unter 100 μm , besser < 50 μm , bei parenteralen Kristallsuspensionen zwischen 5 - 80 μm liegen (52). Nach neueren Untersuchungen an Handelspräparaten von Steroidsuspensionen (96) konnte sogar eine Begrenzung der größten Teilchen auf 20 μm festgestellt werden. Ganz allgemein ist zu fordern, daß definierte Partikelgrößen zum Einsatz kommen und Rekristallisationserscheinungen vermieden werden.

1.3. Zielsetzung der Arbeit

Betrachtet man unter der Vielzahl von zum Kristallwachstum neigenden Arzneistoffen die Klasse der Steroide, so muß man feststellen, daß diese Erscheinung im Zusammenhang mit polymorphen Umwandlungsprozessen auftreten kann. Übersichtsarbeiten publizierten u.a. KUHNERT-BRANDSTÄTTER et al. (17,18,19,53) und MESLEY (22,54); auch zahlreiche Beschreibungen einzelner Steroide und deren direkter Vergleich sind in der Literatur zu finden (11,14,20,55,56). Auffällig ist dabei, daß über die Polymorphie des zu den höchstwirksamen Steroiden aus der Glucocorticoidreihe zählenden Betamethason bzw. dessen 21-Acetylesther bislang nur wenige, rein deskriptive Aussagen gemacht wurden (19,22,53,56). Dies erscheint umso erstaunlicher, als bereits die handelsübliche Reinsubstanz erkennen läßt, daß es sich nicht um ein einheitliches Produkt handelt.

Wie aus der DTA-Kurve (Abb. 1) hervorgeht, treten vor dem scharfen "Schmelzpeak" bei 494 K (221 °C) ausgeprägte endotherme und exotherme Auslenkungen auf.

Auch vergleichende Untersuchungen zu den strukturähnlichen Steroiden Dexamethasonacetat und Fluprednylidenacetat sind - abgesehen von den o.e. Übersichten - noch nicht durchgeführt worden.

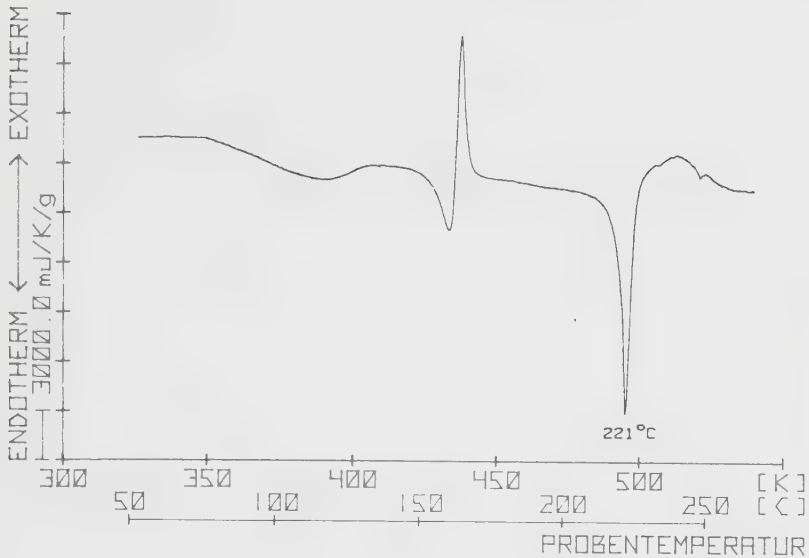


Abb. 1 DTA-Kurve von Betamethasonacetat-Ausgangsmaterial H
(Heizrate: 5 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Da nun handelsübliches Betamethasonacetat offenbar als Modifikationsgemisch vorliegt, erschien die Frage interessant, ob es bei dieser Substanz überhaupt möglich ist, bestimmte Kristallformen rein darzustellen und deren Stabilität bei Lagerung in trockenem und wässrigem Milieu, im Hinblick auf den Einsatz in Suspensionen zu überprüfen. Bekanntlich werden die besonders schwerlöslichen Ester der Steroidhormone bevorzugt in Injektionspräparate, Emulsionen und Cremes aufgrund ihrer Schwerlöslichkeit dispergiert. Weiterhin ist bislang offensichtlich das Problem einer Solvat- bzw. Hydratbildung noch nicht hinreichend geklärt, was ja wegen der bekannten Stabilität von Steroidhydraten (16) für den Einsatz in wässrigen Arzneiformen eine günstige Prognose erwarten ließe.

Therapeutisch werden schwerlösliche Steroidester als Depotsubstanzen in den erwähnten Darreichungsformen eingesetzt; allerdings findet man in Handelspräparaten des Betamethasonacetats und auch in einer Monographie der USP XX (78) nur Kombinationen mit dem gut wasserlöslichen Dinatriumsalz des Phosphorsäureesters von Betamethason. Wenngleich bisher Handelspräparate und eine Monographie der USP XX diese Kombinationen enthalten, sollte im folgenden die grundsätzliche Frage der physikalischen Stabilität des r e i n e n suspendierten 21-Acetats untersucht werden.

2. Der Wirkstoff

2.1. Chemische Aspekte

2.1.1. Entwicklung der Corticosteroide

Als ROGOFF und STEWART im Jahre 1927 beobachteten, daß man das Leben adrenaletomierter Hunde durch die Injektion von Nebennierenrindenextrakt von Fröschen entscheidend verlängern konnte (57), wurde klar, daß diese Extrakte hochwirksame Hormone enthalten mußten. In den folgenden Jahren wurden aus solchen Extrakten mehr oder weniger wirksame Steroide isoliert und deren Struktur aufgeklärt. Die aufsehenerregende Entdeckung der therapeutischen Einsatzfähigkeit von Cortison - 1949 - gab dann der Steroidforschung nochmals einen entscheidenden Impuls (58) und führte zur verstärkten Verwendung von Corticosteroiden bei der ärztlichen Behandlung.

Gleichzeitig dachte man an eine chemische Abwandlung der natürlichen Verbindungen, um die

- antiphlogistischen
- antiallergischen und
- antirheumatischen Effekte zu verstärken, die
- pharmakokinetischen Eigenschaften zu optimieren und
- Nebenwirkungen zu verringern.

Besonders wichtig war dabei die Entdeckung, daß eine 9 α -Halogenierung, vor allem in 9 α -Fluorverbindungen, zu einer Steigerung der therapeutischen Wirkung um ein Vielfaches führte (59). Ein weiterer bedeutender Fortschritt wurde durch die Beobachtung von HERSHBERG et al. (60) erzielt, wonach die Einführung einer Doppelbindung in 1,2-Position des Steroidgerüsts ebenfalls die Aktivität der natürlichen Corticoide steigert. Gleichzeitig wur-

den bei Substanzen mit dieser Strukturänderung auch geringere unerwünschte Nebenwirkungen festgestellt. Als positive Weiterentwicklungen bezüglich eines günstigen Wirkungs-Nebenwirkungsverhältnisses sind in der Folgezeit vor allem die Einführung einer 16 α -Hydroxygruppe zum Triamcinolon (61) bzw. dessen 16 α -, 17 α -Ketal, dem Triamcinolonacetonid (62) oder die Methylierung in 16-Stellung anzusehen (63). Mit den 16-Methyl-9 α -fluorprednisolonen Dexa- und Betamethason hat man die wirksamsten Glucocorticoide ohne mineralocorticoide Wirkung (58).

2.1.2. Betamethasonacetat: Chemie - Arzneibuchangaben

Synthetisch wird Betamethasonacetat (BA) als vorletzte Stufe bei der Betamethasonsynthese erhalten (63,64). Es unterscheidet sich von dem natürlichen Steroid Hydrocortison an vier Stellen (Abb. 2a und c). Zwischen Dexamethasonacetat und BA besteht dagegen nur ein sterischer Unterschied: Bei Dexamethasonacetat liegt eine α -, bei BA eine β -Stellung der 16-Methylgruppe vor (Abb. 2b und c).

Abbildung 3 zeigt die vollständige Konformation des BA.

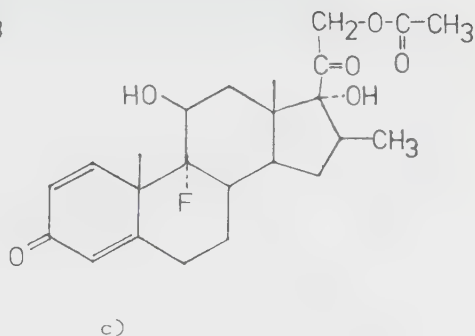
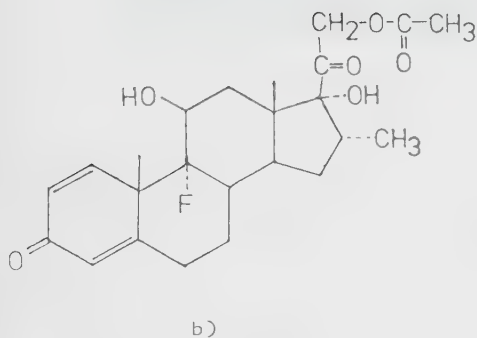
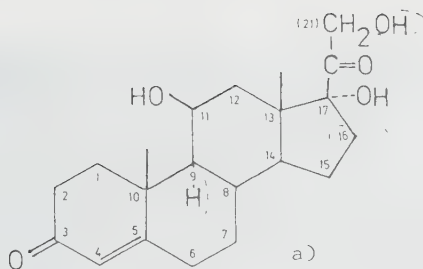
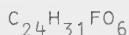


Abb. 2 Formelschema von: a) Hydrocortison (Cortisol)
 b) Dexamethasonacetat
 c) Betamethasonacetat

(---) Positionen, an denen Hydrocortison verändert wurde, um zu b) bzw. c) zu gelangen.

Interessant an der Synthese des BA ist die Einführung der 16 β -Methylgruppe, wobei über Diazomethananlagerung ein 16 α -, 17 α -ständiger Pyrazolinring entsteht, nach dessen pyrolytischer Spaltung eine katalytische Hydrierung zur 16 β -Methylverbindung führt (77).



MG: 434,50

9 α -Fluor-11 β ,17,21-trihydroxy-16 β -methylpregna-1,4-dien-3,20-dion-21-acetat

Abb. 3 Konformation des Betamethasonacetat-Moleküls

Die in der Bundesrepublik Deutschland gesetzlich gültige Pharmacopoea Europaea hat zwar die freien Alkohole von Dexa- und Betamethason, nicht jedoch deren schwerlösliche 21-Essigsäure-ester als Monographien aufgenommen (75). Im Kommentar zur Ph.Eur. wird die Entwicklung des Betamethason dann - wie eben erläutert - als Ergebnis der Bemühung um ein wirkungsstärkeres Corticosteroid mit verminderter mineralocorticoider Wirkung dargestellt (76).

In anderen Arzneibüchern, wie USP XX oder BP 1980, werden neben dem freien Alkohol auch verschiedene Ester des Betamethason mit aufgeführt, wobei jedoch lediglich die USP XX und MARTINDALE's Extra Pharmacopoeia den 21-Essigsäureester beschreiben (78,79,80).

Als Besonderheit ist beim Betamethason noch zu erwähnen, daß in dieser Substanz erstmals ein β -ständiger Substituent am Steroidgerüst aktivitätssteigernd wirkt (64). Eine Auswahl von derzeit häufig eingesetzten Glucocorticoiden mit Angabe der relativen Wirkstärke und der Cushingschwellendosis als Maß für unerwünsch-

te Nebenwirkungen zeigt folgende Tabelle:

Tab. 1 Cushing-Schwellendosis, relative entzündungshemmende und relative mineralocorticoide Wirkung von Glucocorticoiden (nach (65)).

Hormon	Cushing-Schwellendosis (mg/Tag)	Relative entzündungshemmende Wirkung bezogen auf Hydrocortison = 1	Relative Mineralocorticoidwirkung bezogen auf Hydrocortison = 1
Betamethason	0,75 - 1,5	30	< 0,1
Cortison	40 - 50	0,8	0,8
Dexamethason	1,5 - 2	25 - 30	< 0,1
Fluocortolon	7,5 - 10 - 20	4	< 0,1
Hydrocortison (Cortisol)	30 - 40	1	1
Methylprednisolon	6 - 8	5	0,5
Paramethason	6 - 10	10	< 0,1
Prednisolon	7,5 - 10	4	0,6 - 0,8
Prednison	7,5 - 10	4	0,6 - 0,8
Prednylidon	18 - 25	3,5	
Triamcinoion	6 - 8	5	< 0,1

2.2. Therapeutische Aspekte

Die Einführung der 16-Methylgruppe hemmt die Biotransformation des Steroids und trägt daher zu einer verlängerten biologischen Halbwertszeit von Beta- und Dexamethason bei. Außerdem bringt die Überführung der Steroidalkohole in schwer wasserlösliche und schwer enzymatisch spaltbare Ester eine weitere Wirkungs-

prolongation mit sich (66). Aufgrund dieses Sachverhaltes werden die Steroidalkohole für perorale Arzneiformen, wie Tabletten, und die schwerlöslichen Ester für Kristallsuspensionen zur vorzugsweise parenteralen und zur topischen Anwendung eingesetzt.

In diesem Zusammenhang sei angemerkt, daß Steroidpräparate mit verlängerter Wirkung - Depot- und Retardpräparate - allerdings in zunehmendem Maße kritisiert werden. Heute propagiert man gerade in der peroralen Corticosteroidtherapie mit den reinen Steroidalkoholen die zirkadiane - Tagesdosis morgens -, die alternierende - 48 h-Dosis jeden 2. Tag morgens - oder die intermittierende Behandlung - z.B. 5 Tage kontinuierliche Gabe - 5 Tage Pause etc. -, um die Unterdrückung der körpereigenen Hormonproduktion weitgehend zu vermeiden (67-70). Unter Berücksichtigung dieser Überlegungen müßte der Einsatz eines sehr lange wirksamen Corticosteroids wie BA gründlich überlegt werden. So stehen auch einige Ärzte der Behandlung mit Depotarzneiformen der Steroide kritisch gegenüber (68,69). Anders liegen jedoch die Verhältnisse bei entzündlichen Prozessen in Gelenken oder in der weit verbreiteten dermatologischen Therapie. In diesen Fällen wird bekanntlich mit Injektionspräparaten bzw. Salben lokal gearbeitet, bei denen die zirkadiane Behandlung durch häufige Applikation prohibitiv ist. Der gezielte und überlegte Einsatz kann hier durchaus für sinnvoll gehalten werden (66, 71,72).

Betamethasonacetat darf daher im Rahmen einer Substitutionstherapie nicht eingesetzt werden, sondern nur aufgrund seiner pharmakodynamisch günstigen Effekte Verwendung finden. Zusammen mit dem wasserlöslichen Phosphorsäureester des Betamethasons steht es als Kristallsuspension zur intraartikulären Applikation zur Verfügung. Aber auch andere Anwendungsformen, wie intramuskuläre und intratendinöse Injektion, sind bereits erprobt worden (66,80).

2.3. Galenische und biopharmazeutische Aspekte

Vergleicht man nun verschiedene Steroidkristallsuspensionen in äquivalenter Dosierung, so erkennt man, daß die Wirkungsdauer nicht nur von der Struktur des eingesetzten Steroids, sondern ganz entscheidend von der galenischen Zubereitung abhängt (66).

So spielt für Umfang und Dauer der Liberation des Arzneistoffes aus dem Depot das Lösungsverhalten der Kristalle eine ausschlaggebende Rolle. Hierbei sind sowohl die Eigenschaften des suspendierten Wirkstoffes als auch der Einfluß von Hilfsstoffen von wesentlicher Bedeutung (52,73,92). Arzneistoffbedingte Einflüsse können dabei durch

- Kristallgröße
- Korngrößenverteilung
- Oberflächengestaltung
- Aggregationsneigung der Kristalle
- Kristallgitterbau - Polymorphie und Pseudopolymorphie
- Sättigungslöslichkeit des Stoffes

vorliegen.

Beeinflussung der Stärke und Dauer der beabsichtigten Wirkung kann aber auch durch Hilfsstoffe bedingt sein. Als Hilfsstoffe kommen dabei vor allem

- Kolloide
- Tenside
- Konservierungsmittel
- Salze zur Pufferung und Isotonisierung

in Betracht. So beschrieben einerseits z.B. HIGUCHI et al. (93) die Abhängigkeit der Lösungsgeschwindigkeit des Methylprednisolons von Teilchengröße, Sättigung des Solvens oder Agglomeratbildung. Auf der anderen Seite ist über den kristallwachstumshemmenden Effekt von Methylcellulosen oder Polyvinylpyrrolidon (5, 43,44,48) berichtet worden. Tenside oder auch Konservierungsmittel - wie der Steroide gut lösende Benzylalkohol - können gegen-

teilig wirken (94,95) und somit unter Umständen auch Kristallwachstum begünstigen.

Unter diesen Gesichtspunkten kommt der Verfahrenstechnik eine nicht unerhebliche Bedeutung zu. So muß z.B. beachtet werden, daß die im Zuge einer Naßmahlung beabsichtigte Zerkleinerung nur dann sinnvoll ist, wenn eine Reagglomeration der Partikeln im Laufe der Lagerung oder bei der Anwendung wirksam verhindert werden kann.

Biopharmazeutisch betrachtet, muß das Verhalten der Kristalle in Körperflüssigkeiten unter Beachtung der Applikationsorte berücksichtigt werden. So berichteten kürzlich SINGER und GRUBER (96) über den Kristallzustand von Corticoiden unter annähernd physiologischen Bedingungen. Sie fanden nach 24-stündiger Inkubation in Synovialflüssigkeit keine wesentliche Veränderung der Kristalle, wobei einzelne Kristallformen jedoch deutlicher hervortraten.

Nach einer Studie von MÖLLMANN et al. (74) dürfte die länger anhaltende Wirkung des Betamethasondipropionats im Vergleich zu BA maßgeblich auf den beträchtlichen Größenunterschied der Ausgangskristalle zurückzuführen sein. Schließlich konnte bezüglich der Applikationsart nachgewiesen werden: Appliziert man eine Kristallsuspension Intraartikulär, so findet eine optimale Verteilung der Partikeln in der Synovialflüssigkeit statt, was zu einer kürzeren Wirkdauer führt. Wird dagegen intramuskulär injiziert, so sind die Teilchen auf engstem Raum im Muskelgewebe deponiert; zudem steht hier zur Lösung nur wenig Gewebsflüssigkeit zur Verfügung (66).

2.4. Analytische Aspekte

2.4.1. Arzneibuchangaben

Zur Charakterisierung von BA kann man zunächst die Angaben der USP XX und von MARTINDALE's Extrapharmacopoeia heranziehen, wo BA als weißes bzw. cremig-weißes, geruchloses Pulver beschrieben wird (78,80).

Die chemische Identifizierung erfolgt durch

- Aufnahme eines Infrarotspektrums,
- UV-Spektroskopie in Methanol mit einem Maximum bei 239 nm,
- Dünnschichtchromatographie + Farbreaktion mit verdünnter Schwefelsäure und
- einem Acetatnachweis.

Als physikalische Parameter dienen

- Löslichkeitsangaben in verschiedenen Lösungsmitteln,
- Schmelzverhalten (s. S. 26)
- die spezifische Drehung in Dioxan.

Zur Gehaltsbestimmung wird nach entsprechender Aufbereitung eine Extinktionsmessung der methanolischen Lösung bei 239 nm herangezogen.

Alle Bestimmungsmethoden berücksichtigen nicht direkt die Möglichkeit des Auftretens polymorpher Modifikationen, obwohl aus der Beschreibung von zwei unterschiedlichen Schmelzpunkten deutliche Hinweise abgeleitet werden können.

Die Ph.Eur. trägt diesem Problem der Polymorphie beim *Beta-methason* insoweit Rechnung, als sie bei der Aufnahme von IR-Spektren im Falle einer möglichen Differenz zwischen Referenz- und Probensubstanz eine Kristallisation beider Stoffe im gleichen Lösungsmittel vorsieht (75). Dadurch würden poly-

morphiebedingte Differenzen eliminiert werden. Weitere Identitätsproben, wie ein Fluornachweis oder die TTC- (Triphenyl-tetrazoliumchlorid) und die Porter-Silber-Reaktion, werden ebenfalls erwähnt. Sie sind auch auf BA übertragbar, wenngleich bei den letztgenannten Reaktionen zunächst eine Verseifung des 21-Essigsäureesters erfolgen müßte.

2.4.2. Angewandte Polymorphieanalytik

Um die Beschreibung des BA unter Beachtung möglicherweise auftretender Polymorphie zu vervollständigen, mußte daher auf andere Untersuchungen zurückgegriffen werden (19,22,53,56). Eine darüber hinausgehende Klärung, wie sie in dieser Arbeit angestrebt wird, basiert auf folgenden bereits erwähnten Untersuchungsmethoden, die in der pharmazeutischen Polymorphieforschung in geeigneter Kombination zum Einsatz kommen:

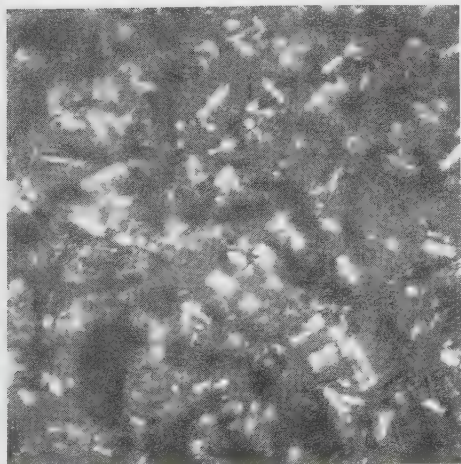
- Differentialthermoanalyse
- Thermogravimetrie
- Röntgendiffraktometrie
- Polarisationsmikroskopie, -heizmikroskopie
- Rasterelektronenmikroskopie
- IR-Spektroskopie
- Löslichkeitsbestimmung mit UV-Detektion

Die Frage, ob sich unterschiedliche Modifikationen möglicherweise hinsichtlich ihrer chemischen Stabilität unterscheiden, wurde mittels HPLC + UV-Detektion geprüft.

3. Polymorphie und Pseudopolymorphie von Betamethasonacetat

3.1. Untersuchung von handelsüblichem Ausgangsmaterial (H)

Betamethasonacetat (BA), wie es für die vorliegende Arbeit eingesetzt und auch in Publikationen beschrieben wurde, stellt ein voluminöses, zur Agglomeration neigendes, schlecht fließendes, weißes bis gelblich-weißes Pulver dar. In Wasser ist es praktisch unlöslich und entspricht in allen Punkten den Arzneibuchangaben der USP XX und der Extra Pharmacopoeia MARTINDALE's (78,80). Polarisations- und rasterelektronenmikroskopisch erkennt man charakteristische Kristalle von unterschiedlicher Größe (Abb. 4 und 5).



— 50 µm

Abb. 4 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von kristallinem BA.
Vergrößerung: 150-fach



— 50 µm

Abb. 5 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von kristallinem BA.
Vergrößerung: 300-fach

Gewonnen wird dieses Produkt durch Ausfällung einer acetoni-schen Lösung von BA in heißem Wasser. Nach Abdestillation des Acetons kühlt man die Suspension auf Raumtemperatur ab, filtriert und trocknet den Rückstand im Vakuum bis zu einem Restwassergehalt von 1 - 4 % (81). Dieser Prozeß ist mit einigen schwer faßbaren Parametern, welche auf die Zusammensetzung des Handelsproduktes hinsichtlich der polymorphen Modifikationen einen Einfluß haben, behaftet.

Aus diesem Grunde ist es notwendig, eine geeignete Analysenmethode zu finden, mit der rasch und zuverlässig die Zusammensetzung der jeweiligen Charge bestimmt werden kann. Bei röntgendiffraktometrischen und infrarotspektralphotometrischen Analysen von Modifikationsgemischen führen Überlagerungen der Einzeleffekte verschiedener Kristallstrukturen häufig zu keinen eindeutigen Aussagen. Thermische Methoden, bei denen Modifikationsumwandlungen beobachtet werden können, erscheinen daher geeigneter. Durch die Polarisationsheizmikroskopie lassen sich bei handelsüblichen BA-Kristallen Veränderungen nachweisen.

Noch exakter kann man solche Strukturveränderungen mittels der Differentialthermoanalyse (DTA) beschreiben (29,32,82,83).

3.1.1. Differentialthermoanalyse als bevorzugte Analysenmethode

Diese Untersuchungsmethode wurde vor allem als Indikator für physikalische Veränderungen nach bestimmten, auf BA einwirkenden, verfahrenstechnischen Operationen eingesetzt. Unter der Prämisse, daß Unterschiede des DTA-Verlaufes auch durch Solvate (11,84,85), die Bildung von Flüssigkristallen (5,86) oder andere spezifische Oberflächen (87) hervorgerufen werden können, empfiehlt es sich, die DTA mit anderen Methoden zu kombinieren (3,11,82,85,88).

Den im Kurvenverlauf einer DTA beobachteten endo- und exothermen Auslenkungen liegt ein spezifisches thermisches Verhalten der Stoffe während des Aufheizens zugrunde (82). Nach der GIBBS-HELMHOLTZ'schen Gleichung (1)

$$G = H - T \cdot S \quad (1)$$

wird die freie Enthalpie G einer Substanz aus der Gesamtenthalpie H vermindert um die Entropie S bei einer bestimmten Temperatur T (in K) und konstantem Druck erhalten. Aus der Differenz der freien Enthalpie polymorpher Modifikationen

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad (2)$$

kann man gewisse Rückschlüsse auf deren thermodynamische Stabilität ziehen (3). Bei einer gegebenen Temperatur ist diejenige Modifikation mit der geringsten freien Enthalpie G am stabilsten.

Für die Umwandlung zweier Modifikationen ist im Umwandlungspunkt T_U die freie Enthalpie der Substanzen gleich, d.h. $\Delta G = 0$. Die Umwandlungsenergie ΔH_U läßt sich dann wie folgt darstellen:

$$\Delta H_U = T_U \cdot \Delta S_U \quad (3)$$

wobei ΔS_U die Umwandlungsentropie bezeichnet.

Da nun die DTA eine dynamische Untersuchungsmethode darstellt, werden die mit einer Umwandlung verbundenen Energiebilanzen nicht im Umwandlungspunkt T_U , sondern mit einer gewissen Verzögerung aufgezeichnet. Dadurch wird $\Delta G \neq 0$.

Im vorliegenden Fall ist bei den enantiotropen Modifikationsumwandlungen $\Delta H > 0$, d.h. es muß Energie aufgewendet werden, um die neue Kristallstruktur aufzubauen.

Die monotropen Modifikationsumwandlungen sind demgegenüber durch exotherme Auslenkungen gekennzeichnet, da hier $\Delta H < 0$ ist und somit Energie frei wird.

Experimentelle Einflüsse

Bekanntlich spielen die Bedingungen, unter denen eine DTA durchgeführt wird, eine entscheidende Rolle für den resultierenden Kurvenverlauf. Gravierende Einflußgrößen sind Probenmenge, Aufheizgeschwindigkeit, Packungsdichte und Korngröße (29,82). Da im vorliegenden Fall nicht alle Störfaktoren ausgeschaltet werden konnten, ohne eine polymorphe Veränderung bereits bei der Probenaufbereitung zu verursachen, sollen die DTA-Untersuchungen in dieser Arbeit nicht zu einer quantitativen Beurteilung der Phänomene herangezogen werden. So könnte man theoretisch unterschiedliche Packungsdichten oder Korngrößen durch ein vorheriges Durchschmelzen und Wiederauskristallisieren angleichen, um den thermischen Widerstand innerhalb der Probe zu minimieren. Dies ist jedoch praktisch bei einer polymorphen und unter Zersetzung schmelzenden Substanz wie BA ohne Verfälschung der Versuchsergebnisse nicht möglich. Auf den Einfluß der Aufheizgeschwindigkeit und der Probenmenge wurde hingegen geachtet. So ergab die Variation der Aufheizgeschwindigkeit mit 2, 5 bzw. 10 K/min. neben den bekannten Erscheinungen, wie geringfügige Änderung von Höhe und Lage der Peaks, keinen signifikanten Unterschied im Kurvenverlauf. Das Ausbleiben einer Auslenkung oder das Auftreten einer neuen wurden nicht beobachtet. Die Aufheizrate wurde dann in allen Fällen mit 5 K/min. gewählt. Auch der Einfluß der Probenmenge auf den Kurvenverlauf war im gewählten Einsatzbereich von 2 - 3 mg für die zu erzielenden Aussagen nicht ausschlaggebend.

3.1.2. Untersuchung des Ausgangsmaterials H

Vergleicht man nun die DTA-Kurve einer "frischen" Ausgangssubstanz H² (Abb. 1) mit einer drei Jahre gelagerten Probe aus derselben Charge, so lassen sich qualitativ und quantitativ keine signifikanten Veränderungen erkennen, was als Indiz für die Stabilität des Modifikationsgemisches in trockenem Zustand angesehen werden kann (Abb. 1, S. 9 und Abb. 6).

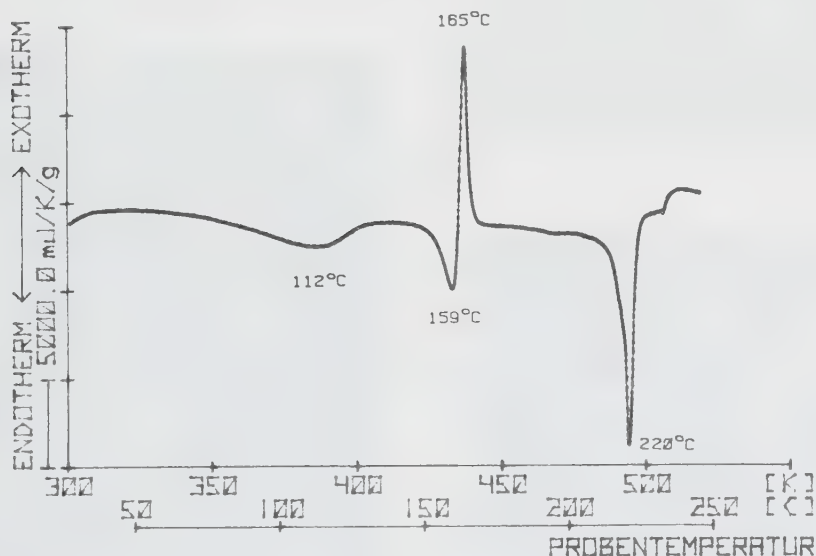


Abb. 6 DTA-Kurve von BA-Ausgangsmaterial H - 3 Jahre gelagert
(Heizrate: 5 K/min., N₂: 25 ml/min.)

Es war nicht bekannt, wie alt die Substanz beim Beginn der Untersuchungen war.

Insgesamt ist ein relativ komplexer Verlauf zu erkennen: Zunächst fällt auf, daß eine erste endotherme Auslenkung im Bereich zwischen ca. 340 K (67 °C) und 410 K (137 °C) mit einem Minimum bei ca. 385 K (112 °C) auf Lösungsmittelreste hindeutet. Dies trifft jedoch auch für frisch getrocknete Substanz - 378 K (105 °C) - zu. Daran schließt sich ein endothermer Peak bei ca. 432 K (159 °C) an, der unmittelbar in einen exothermen Peak bei ca. 438 K (165 °C) übergeht. Diese Erscheinung kann so interpretiert werden, daß ein optisch erkennbarer Schmelzprozeß, gefolgt von einer durch Kristallisation in Erscheinung tretenden monotropen Modifikationsumwandlung, auftritt. Schließlich ist noch ein stark ausgeprägter Peak bei ca. 493 K (220 °C) zu erkennen, der nicht auf die Basis zurückkehrt, sondern darüber hinausführt, was auf eine Zersetzungsreaktion schließen läßt.

Diese Beobachtungen lassen sich mit den Angaben bei MARTINDALE (80) in Einklang bringen, der Schmelzpunkte bei ca. 165 °C und 200 - 220 °C für BA angibt. Sie stimmen auch weitgehend mit den Ergebnissen von KUHNERT-BRANDSTÄTTER und GASSER (19) bzw. PERRIER (56) überein, die erbrachten, daß handelsübliches BA in einer Modifikation II vorliegt, die bei 150 - 167 °C unter homogenem oder inhomogenem Schmelzen in Modifikation I übergeht, die nun allerdings bei 204 - 211 °C schmilzt.

Auffällig ist bei allen Angaben, daß keine Aussagen über die erste endotherme Auslenkung gemacht wurden, und daß die Schmelzpeaks, vor allem der Modifikation I, in einem so großen Temperaturintervall schwanken.

Die thermomikroskopische Kontrolle des Aufheizvorganges zeigte in allen Fällen, daß - nach einer gewissen "Aufhellung" der Kristalle im Bereich der ersten endothermen Auslenkung bis ca. 408 K (135 °C) (Abb. 7) - bei ca. 433 K (160 °C) neben bereits geschmolzenen Teilchen eine größere Zahl von Kristallen sichtbar ist (Abb. 8). Diese Kristalle könnten noch nicht geschmolzene Anteile der Modifikation II oder der höher schmelzenden Modifikation I sein.

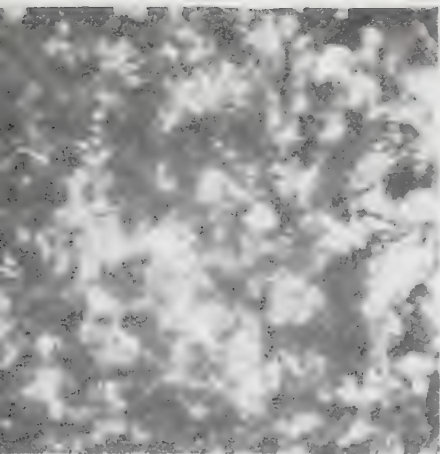


Abb. 7 ————— 50 µm

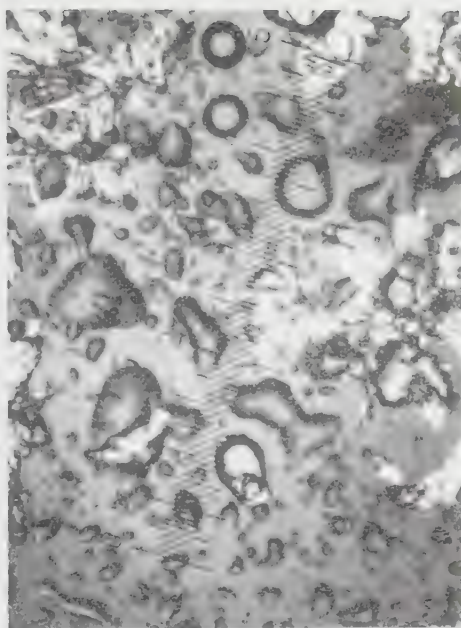


Abb. 8 ————— 50 µm

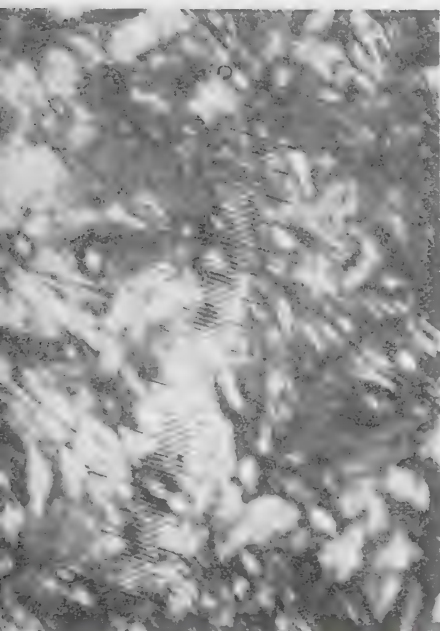


Abb. 9 ————— 50 µm

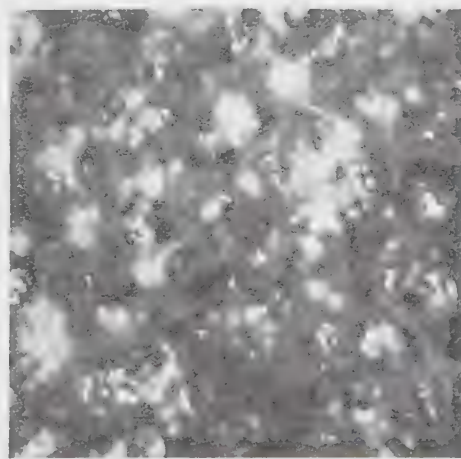


Abb. 10 ————— 50 µm

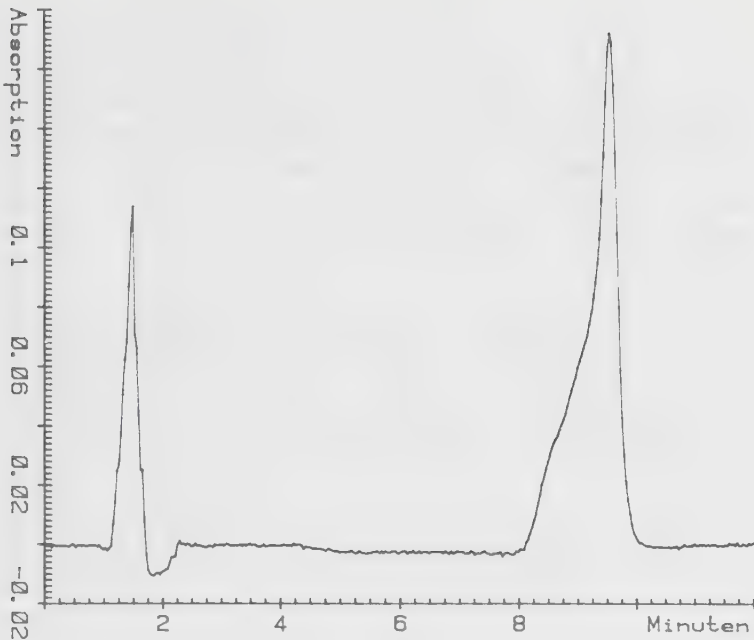
Abb. 7 – 10: Polarisationsheizmikroskopische Aufnahmen von BA-H bei 403 K (130 °C) (7), 433 K (160 °C) (8), 438 K (165 °C) (9) und 483 K (210 °C) (10); Vergrößerung: Jeweils 150-fach

Systematische Untersuchungen ergaben, daß die Kristalle nicht im Anschluß an den Schmelzprozeß gebildet wurden. Es konnte sich daher nur um Anteile der höher schmelzenden Modifikation I handeln, die somit bereits im Ausgangsmaterial H vorgelegen haben mußten.

Bei weiterem Aufheizen wurde dann aus den geschmolzenen Anteilen eine vollständige Kristallisation, sternförmig ausgehend von den bereits vorhandenen Kristallkeimen, nachgewiesen (Abb. 9). Die gebildete Modifikation I begann dann bei ca. 483 K (210 °C) unter Zersetzung zu schmelzen (Abb. 10).

Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß BA-Handelsware H bereits im Ausgangsmaterial zwei kristalline Modifikationen enthält. Im Rahmen dieser Arbeit mußte nun untersucht werden, ob es gelingen kann, die verschiedenen Kristallformen einzeln zu fassen bzw. rein darzustellen.

Außerdem interessierte auch, ob die chemische Stabilität gewährleistet ist. Hierzu wurden HPLC-Untersuchungen mit UV-Detektion bei 238 nm durchgeführt. Dabei wurde unter den gleichen Analysenbedingungen gearbeitet, wie sie bei dem für BA und Dexamethasonacetat entwickelten chromatographischen Trennverfahren zum Einsatz kamen (s. 3.3.3., S. 33). Die Untersuchungen ergaben, daß alle Proben, d.h. sowohl die einzelnen Modifikationen bzw. die Modifikationsgemische als auch die fertig rezeptierten Kristallsuspensionen, hinsichtlich BA keine Veränderungen erkennen ließen. Als repräsentatives Beispiel ist in Abbildung 11 die HPLC-Kurve von BA-H wiedergegeben.



H P L C - Analyse
 BA 0,01%ig in MeOH

Fließmittel A: Acetonitril 40% FR: 1,5ml/min

Fließmittel B: Wasser 60%

Injiziertes Volumen: 100 Mikroliter

Säulentyp: HIBAR Lichrosorb® RP-18, 5µm

Säulendimensionen: 250 * 4 mm I.D.

Abb. 11 HPLC-Chromatogramm von BA

3.2. Gewinnung von BA-Ausgangsmaterial

Bei zur Polymorphie neigenden Verbindungen kann während der Lagerung eine zumindest partielle Modifikationsumwandlung stattfinden, was das vorliegende Modifikationsgemisch des Handelsproduktes H erklären könnte. Da das Alter des für die Untersuchungen eingesetzten BA-H nicht bekannt war, wurde die Auskristallisation des Steroids nach der erwähnten Methode (s. S. 22 nach (81)) durchgeführt.

So wurde 1 g BA in 15 ml Aceton gelöst, in 80 ml heißem Wasser (353 – 363 K (80 – 90 °C)) unter kontinuierlichem Rühren mit einem Magnetrührer (200 UpM) ausgefällt, das Aceton abgedampft und bis zum Erkalten weitergerührt. Anschließend wurde filtriert und der Rückstand bei 323 K (50 °C) im Vakuumtrockenschrank ca. 12 h lang getrocknet.

DTA-Untersuchungen ergaben bei einem Teil der Versuche Produkte, die mit dem Ausgangsmaterial H identisch waren (Abb. 12).

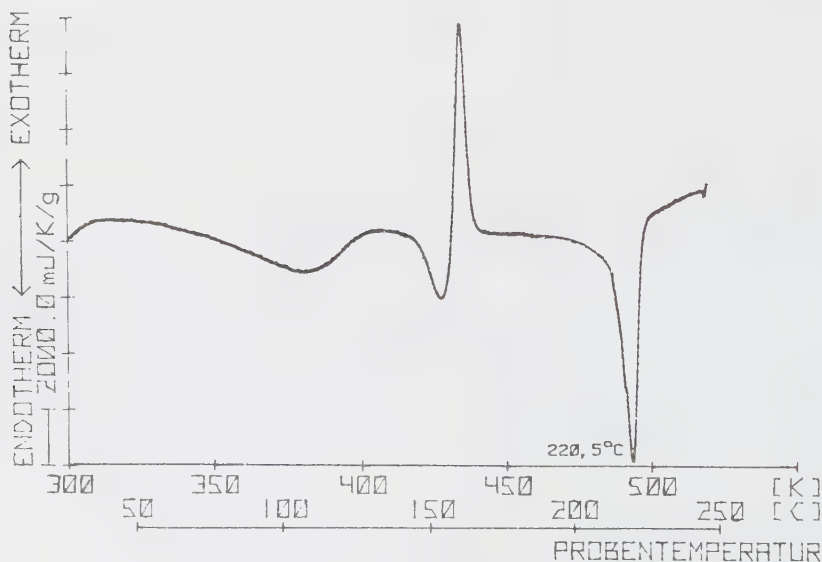


Abb. 12 DTA-Kurve von frisch ausgefälltem BA

Diese frisch gefällten Muster waren auch nach zweijähriger Lagerung noch unverändert.

Daß dieser Kristallisationsprozeß mit verschiedenen, schwer faßbaren Parametern behaftet ist, geht aus abweichenden DTA-Kurvenverläufen hervor (s. Abb. 22, S. 50). Auf die Gründe hierfür wird in Kapitel 3.4.2. eingegangen. Für die Beschreibung des Handelsproduktes H kann jedenfalls gesagt werden, daß sich frisch hergestelltes und gelagertes Produkt offensichtlich nicht voneinander unterscheiden, was auch durch andere Untersuchungsmethoden (Röntgendiffraktometrie, Polarisationsmikroskopie) bestätigt werden konnte.

Vor einer experimentellen Klärung der aufgeworfenen Fragen sind einige Überlegungen zum stereoisomeren Dexamethasonacetat angezeigt.

3.3. Vergleich mit Dexamethasonacetat

Dexamethasonacetat unterscheidet sich nur durch die α -Stellung der 16-Methylgruppe (s. S. 13) am Steroidgerüst. Da das Wirkungsspektrum und die Dosisäquivalenz beider Corticoide gleich sind (s. Tab. 1, S. 15), interessierte, ob auch physikalisch ähnliches Verhalten beobachtet werden konnte.

3.3.1. Differentialthermoanalyse

Betrachtet man eine unter gleichen Bedingungen wie bei BA durchgeführte DT-Analyse von Dexamethasonacetat (s. Abb. 13), so fällt auf, daß hier kein Modifikationsgemisch, sondern eine reine Form vorliegt.

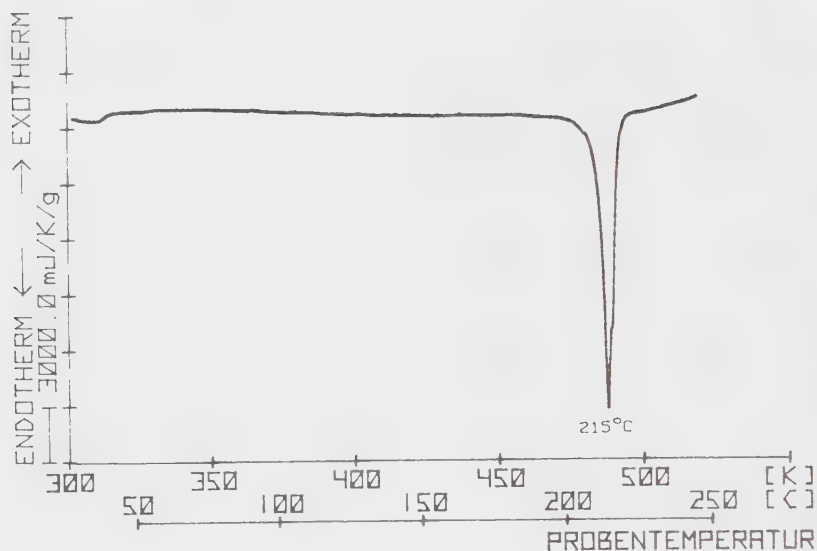


Abb. 13 DTA-Kurve von Dexamethasonacetat

Sie entspricht der in der Literatur beschriebenen Modifikation II (19,53) dieses Steroids und stellt das überwiegend gebräuchliche Ausgangsmaterial von Dexamethasonacetat dar. Daneben wird noch von einer höher schmelzenden Modifikation I (ca. 503 K (230 °C)) berichtet.

3.3.2. Herstellung

Es war nun vorstellbar, daß der Herstellungsprozeß von Dexamethasonacetat einen Einfluß auf das Auftreten verschiedener Kristallformen haben könnte. Daher wurde ein Dexamethasonacetat analog dem BA-Handelsprodukt aus Aceton in Wasser ausgefällt. Doch auch dieses zeigte bei der DTA nur den einen Schmelzpeak bei 488 K (215 °C).

Abweichend von BA führte der Fällungsprozeß in allen Fällen zu DTA-identischen Produkten. Somit liegt offensichtlich ein Einfluß der Stellung der 16-Methylgruppe vor. Während also bei analogen Fällungsbedingungen bei Dexamethasonacetat stets ein reines Produkt, d.h. eine Modifikation resultierte (1 Schmelzpeak), fiel im Falle des BA ein Modifikationsgemisch an.

3.3.3. HPLC-Trennverfahren

Um auch bei späteren Untersuchungen Dexamethasonacetat qualitativ von BA unterscheiden zu können, wurde ein HPLC-Trennverfahren entwickelt. In Anlehnung an ein von der Fa. Merck vorgeschlagenes Auswahlssystem für Trennprobleme organischer Substanzen (49) wurde ein Verfahren für die beiden Corticoide ausgearbeitet. Dabei erfolgte die Trennung der Steroide auf einer Lichrosorb® RP 18-Säule mit einem Acetonitril-Wasser-Gemisch als mobiler Phase. Ein Verhältnis von 40 : 60 für Acetonitril : Wasser und eine Durchflußrate von 1,5 ml/min. erwies sich als geeigneter Kompromiß, um bei genügender qualitativer Trennleistung die Retentionszeiten beider Steroide nicht zu groß werden zu lassen. Die UV-Detektion der injizierten 0,01proz. methanolischen Substanzgemische erfolgte bei 238 nm, dem Absorptionsmaximum für beide Corticoide (Abb. 14, 15).

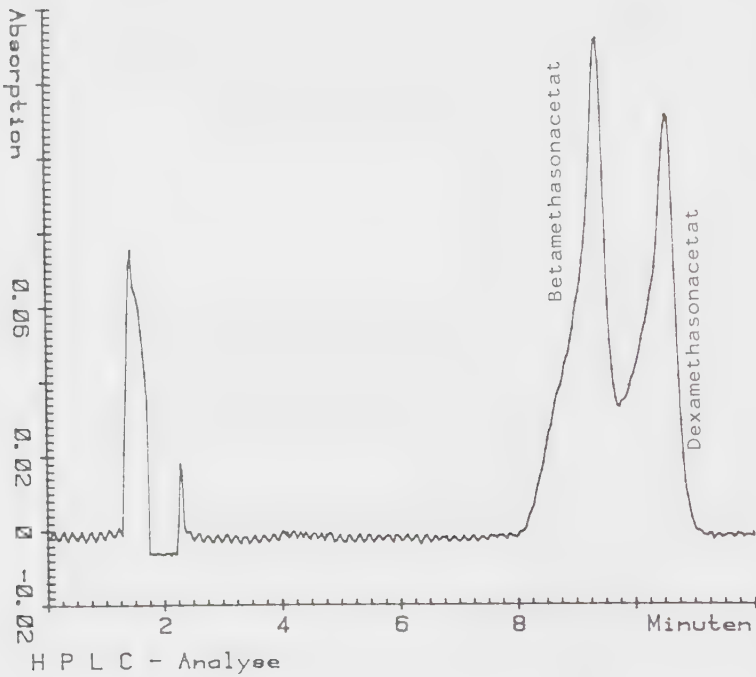


Abb. 14 HPLC-Chromatogramm von BA/Dexamethasonacetat 1 : 1

Hierbei läßt sich jedes Steroid in einem Gemisch, selbst bei einem deutlichen Überschuß des jeweils anderen, noch eindeutig erkennen.

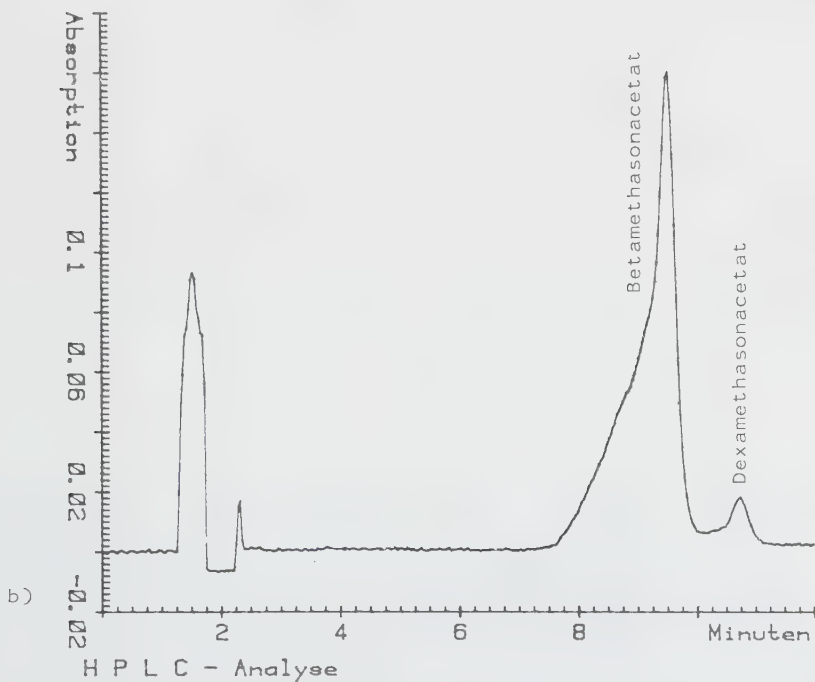
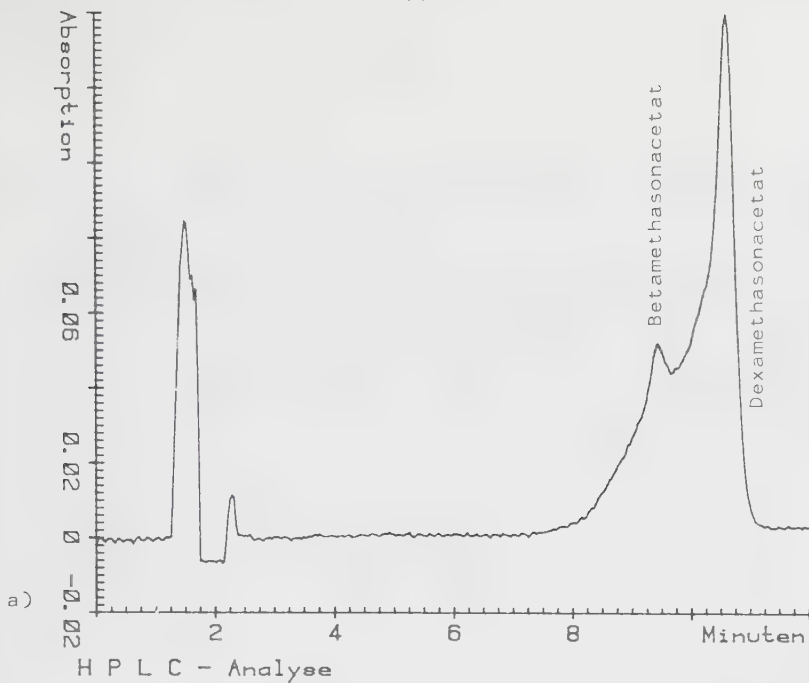


Abb. 15 a) HPLC-Chromatogramm von BA/Dexamethasonacetat 1 : 9
 b) HPLC-Chromatogramm von BA/Dexamethasonacetat 9 : 1

3.4. Herstellung definierter BA-Modifikationen

Von den eingangs erwähnten Möglichkeiten zur Gewinnung definierter Modifikationen einer polymorphen Substanz konnte die Kristallisation aus der Schmelze oder aus der Dampfphase, angesichts der dabei eintretenden Zersetzung, nicht angewendet werden. Von den anderen Verfahren kamen im Rahmen dieser Arbeit folgende zum Einsatz:

- Kristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln.
- Ausfällung in dem "Nichtlösungsmittel" H_2O .
- Thermotrope Umwandlung unterhalb des Schmelzbereichs von 473 - 493 K (200 - 220 °C).
- Sprühtrocknung.
- Mechanische Belastung durch Mahlen.

3.4.1. Gewinnung aus verschiedenen Lösungsmitteln

Durch Auskristallisation sollte die Gewinnung stabiler Modifikationen erreicht werden. Dieses Verfahren wird bekanntlich großtechnisch als wichtigstes zur Gewinnung von verschiedenen Kristallformen eingesetzt.

3.4.1.1. BA aus Suspensionen

Von potentiell geeigneten Lösungsmitteln konnten mit

- Cyclohexan
- Diethylether und
- Tetrachlorkohlenstoff

keine 1proz. Lösungen hergestellt werden. Sie wurden daher für

die Herstellung von Suspensionen eingesetzt, um festzustellen, ob, infolge einer bestehenden Restlöslichkeit, Modifikationsumwandlungen stattfinden konnten.

Hierzu wurden in Petrischalen Suspensionen aus 1 Teil BA und 99 Teilen der genannten Lösungsmittel hergestellt und das Solvens bei 358 – 363 K (85 – 90 °C) auf dem Wasserbad verdampft.

Die DTA-Kurven (Abb. 16) der erhaltenen Produkte zeigten gravierende Unterschiede gegenüber dem Ausgangsmaterial H (s. Abb. 1 und 6).

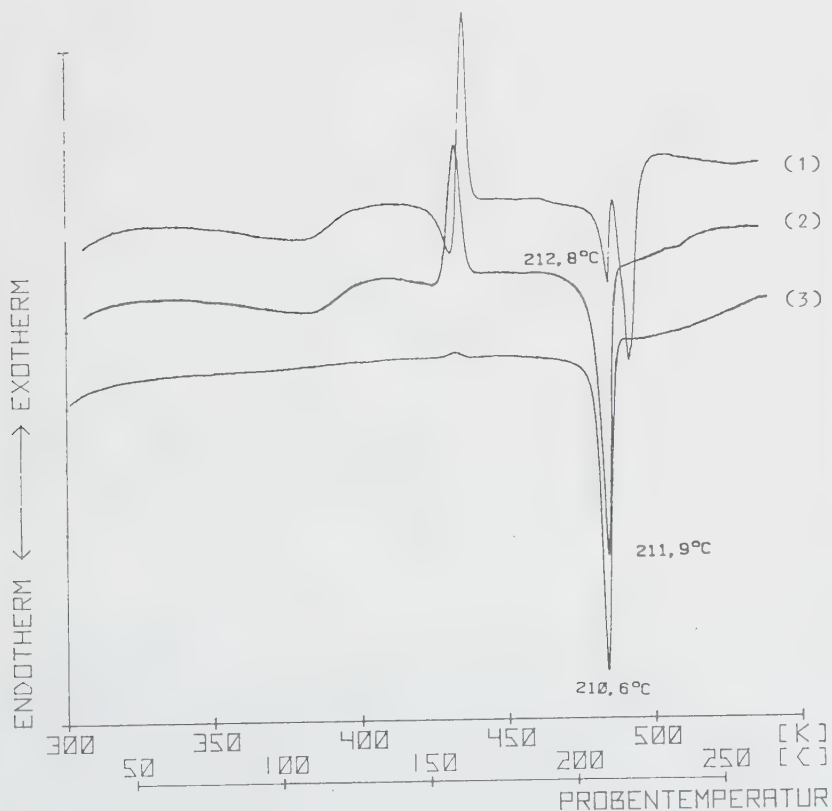


Abb. 16 DTA-Kurven von BA-Suspensionsrückständen aus
1) Cyclohexan 2) Diethylether 3) Tetrachlorkohlenstoff

Die DTA-Kurve des Ether-Suspensionsrückstandes (Kurve 2) und der Ausgangssubstanz sind sich noch am ähnlichsten, wobei allerdings alle Auslenkungen der Kurve 2 bei tieferen Temperaturen auftreten. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Modifikation II zwar deutlich nachweisbar, aber nur schwach in Erscheinung tritt. Aus der Depression des endothermen Schmelz- und Zersetzungspeaks von 493 K (220 °C) auf 484,9 K (211,9 °C) könnte man auf Modifikationsumwandlungen aus dem ursprünglichen Gemisch schließen, zumal der Cyclohexanrückstand (Kurve 1) bei fast der gleichen Temperatur ein zusätzliches endothermes Signal bei ca. 486 K (213 °C) neben der Modifikation I des Ausgangsproduktes erkennen läßt. Röntgenbeugungsuntersuchungen konnten dies jedoch in diesem Fall nicht bestätigen. Es ist wohl gerechtfertigt, wenn man davon ausgeht, daß hier ein qualitativ gleiches Modifikationsgemisch wie bei der Ausgangssubstanz H vorliegt, wobei die Temperaturunterschiede jedoch auf einem anderen Mengenverhältnis der Kristallformen zueinander beruhen.

Die DTA des Cyclohexan-Suspensionsrückstandes (Kurve 1) weist nun wie o.e. einen zusätzlichen Schmelzpeak bei 485,8 K (212,8 °C) auf, der das Vorliegen einer weiteren Modifikation Ia wahrscheinlich macht.

Aus dem Kurvenverlauf kann die Frage noch nicht beantwortet werden, ob die beiden diskreten Peaks durch die Anwesenheit zweier Modifikationen in der Untersuchungssubstanz verursacht werden oder nur eine Form Ia vorlag, die oberhalb 485 K (212 °C) in eine Ib-Modifikation umgewandelt wird*.

* Nach HALEBLIAN und Mc CRONE (2) können verschiedene Modifikationen einer polymorphen Substanz entweder mit römischen Ziffern I, II, III usw. oder mit kleinen griechischen Buchstaben α, β, γ usw. bezeichnet werden. KUHNERT-BRANDSTÄTTER (9) schlägt eine Kennzeichnung mit römischen Ziffern, geordnet nach fallenden Schmelzpunkten, vor. Um die bisher für BA-Modifikationen in der Literatur gebräuchliche Bezeichnungsweise weitgehend beizubehalten, wurden daher hier die höherschmelzenden Formen in Ia und Ib differenziert.

Die Beantwortung dieser Frage gelang im Zusammenhang mit Untersuchungen der reinen Modifikation (s. S. 60).

Die Modifikation I β ist identisch mit der in der Literatur (19, 56) als Modifikation I bezeichneten Form, während von der hier neu bezeichneten Form I α bisher nicht berichtet wurde.

Die DTA-Kurve des Tetrachlorkohlenstoffrückstandes (Kurve 3) schließlich läßt überraschenderweise eine fast vollständige Umwandlung in eine der Modifikationen I erkennen, die der o.e. Kristallphase I α entspricht, was später durch Röntgenbeugungsanalysen nachgewiesen werden konnte.

Keine der so erhaltenen Kurvenverläufe lassen auf eine Solvatbildung schließen, was mit den Literaturangaben (19,53) übereinstimmt. Bemerkenswert ist jedoch die Tatsache, daß es durch teilweise oder vollständige Umkristallisation bereits bei geringer Löslichkeit von BA zur Bildung einer neuen Modifikation kommt.

3.4.1.2. BA-Kristalle aus Lösungen

Wenngleich bereits die S u s p e n s i o n s r ü c k s t ä n d e ein komplexes Polymorphieerscheinungsbild von BA ergeben, so wird dieser Eindruck durch die Betrachtung der DT-Analysen von BA-Produkten, die aus Lösungen organischer Solventien gewonnen wurden, noch verstärkt (Abb. 17).

Analog der Herstellungstechnik für die Suspensionsrückstände wurden hier 1proz. Lösungen aus

Methanol	(1)	Chloroform	(6)
Ethanol	(2)	Ethylmethyleketon	(7)
Dimethylformamid	(3)	Aceton	(8)
Methylenchlorid	(4)	Isopropanol	(9)
Acetonitril	(5)		

auf dem Wasserbad (85 - 90 °C) zur Trockene eingedampft.

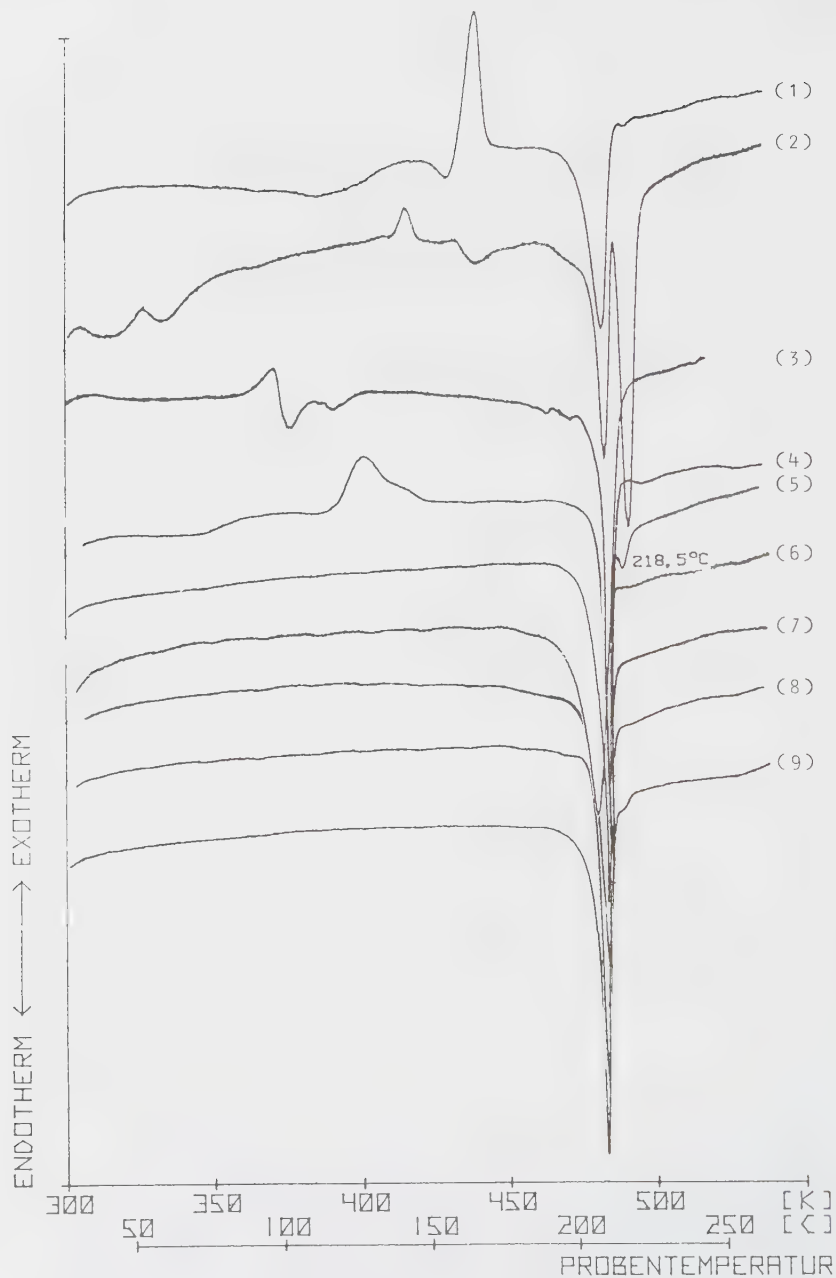


Abb. 17 DTA-Kurven von BA-Produkten aus Lösungen von:

Wie aus Abbildung 17 hervorgeht, ergeben lediglich die Kristalle aus Chloroform (6), Ethylmethyleketon (7), Aceton (8) und Isopropanol (9) DTA-Kurven mit nur einem Schmelzpeak bei ca. 483 K (210 °C), was wiederum auf die Bildung der I α -Modifikation hinweist. Diese neue Gewinnungsmethode für die reine I α -Modifikation konnte durch Röntgenbeugungsuntersuchungen (s. S. 109) abgesichert werden.

Sehr ähnlich fällt auch noch die DTA des Acetonitrilkristallisates (5) aus, die jedoch eine kleine zusätzliche, durch die I β -Modifikation bedingte, endotherme Auslenkung bei 491,5 K (218,5 °C) zeigt.

Das Methanolprodukt (1) führt zu einem ähnlichen Kurvenverlauf wie der Ethersuspensionsrückstand mit einem auf ca. 484 K (211 °C) deprimierten Schmelzpeak der I β -Modifikation.

Die Analysen der Versuche mit Methylenchlorid (4) und Dimethylformamid (3) ergeben außer dem endothermen Hauptsignal bei ca. 485 K (212 °C) zusätzliche Auslenkungen.

Aus Ethanol (96 %) bildet sich unter den genannten Versuchsbedingungen ein Modifikationsgemisch aus Kristallform I α und I β . Zu einem anderen Ergebnis kamen KUHNERT-BRANDSTÄTTER und GASSER (19), die nach einem nicht näher beschriebenen Kristallisationsverfahren aus absolutem Alkohol ein Gemisch aus einer Form I und II erhielten.

3.4.1.3. Einfluß der Kristallisationsbedingungen

Ein Zusammenhang zwischen Lösungsmittelart - auch unter der Berücksichtigung der Siedepunkte - und den auftretenden Kristallformen, unter den gewählten Bedingungen, ließ sich nicht erkennen. Zur Untersuchung des Einflusses der Kristallisationsbedingungen auf das resultierende Produkt wurden mit den Lösungsmitteln, aus denen die reine I α -Modifikation dargestellt werden konnte,

die Versuchsbedingungen variiert. Zunächst war es wichtig, zu klären, ob eventuell die Temperatur bei der Lösungsmittelverdunstung und damit die Geschwindigkeit einen Einfluß auf die resultierenden Modifikationen ausüben würde. Bekanntlich ist ja der Einfluß der Kristallisationsgeschwindigkeit bei Schmelzen für das Entstehen bestimmter fester Zustände mitunter stark ausgeprägt (104).

Daher wurden Kristallisationen von 1proz. BA-Lösungen aus Chloroform, Aceton und Isopropanol bei 298 K (25 °C) ohne Anlegung eines Vakuums durchgeführt. Die DTA-Kurven der so erhaltenen Produkte zeigen nun tatsächlich ein unterschiedliches Erscheinungsbild (Abb. 18).

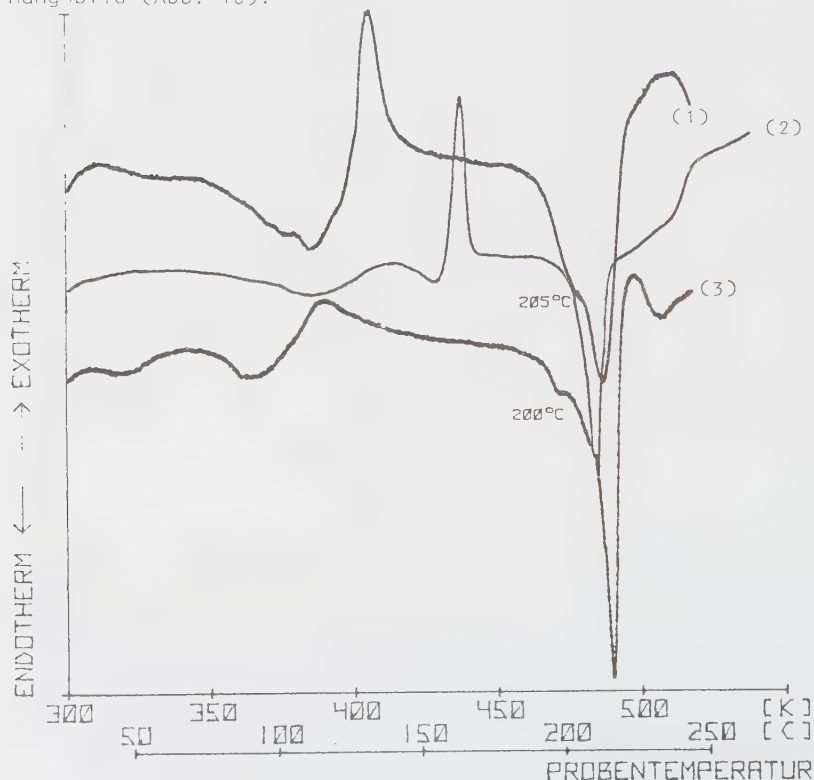


Abb. 18 DTA-Kurven von BA-Produkten aus Lösungen von:

- 1) Aceton 2) Isopropanol 3) Chloroform
bei 298 K (25 °C)

Während aus Isopropanol (2) praktisch wieder das Ausgangsprodukt erhalten wird, sind bei den Kurven des Chloroform- und Acetonkristallisates (3 und 1) stärkere Abweichungen zu erkennen. In beiden Fällen deuten Schultern bei ca. 473 K (200 °C) bzw. 478 K (205 °C) vor dem Schmelz- und Zersetzungsspeak der I β -Modifikation auf das Vorliegen von Resten der I α -Modifikation hin.

Daraus kann gefolgert werden, daß die I α -Modifikation nur dann in reiner Form gewonnen werden kann, wenn höhere Temperaturen zur Entfernung der Lösungsmittel einwirken und damit der Prozeß nicht zu lange dauert.

Unter diesen Bedingungen der langsamen Verdunstung wurden offensichtlich auch schon geringe Anteile der Modifikation II gebildet, was aus dem Verlauf der DT-Analysen - besonders bei Kurve 2 - im ersten Abschnitt hervorgeht.

Nun sollte noch der mechanische Einfluß im Verlauf des Kristallisationsvorganges aus diesen drei Lösungsmitteln untersucht werden. Hierzu wurden entsprechende Proben am Rotationsverdampfer bei 323 K (50 °C) unter vermindertem Druck (100 hPa) getrocknet. Unter diesen Bedingungen konnten Produkte erhalten werden, die mit den bei erhöhter Temperatur und Atmosphärendruck resultierenden Kristallen vergleichbar waren.

Sie sind gekennzeichnet durch die endotherme Auslenkung bei ca. 485 K (212 °C) - dem Schmelzpunkt der reinen I α -Modifikation (Abb. 19).

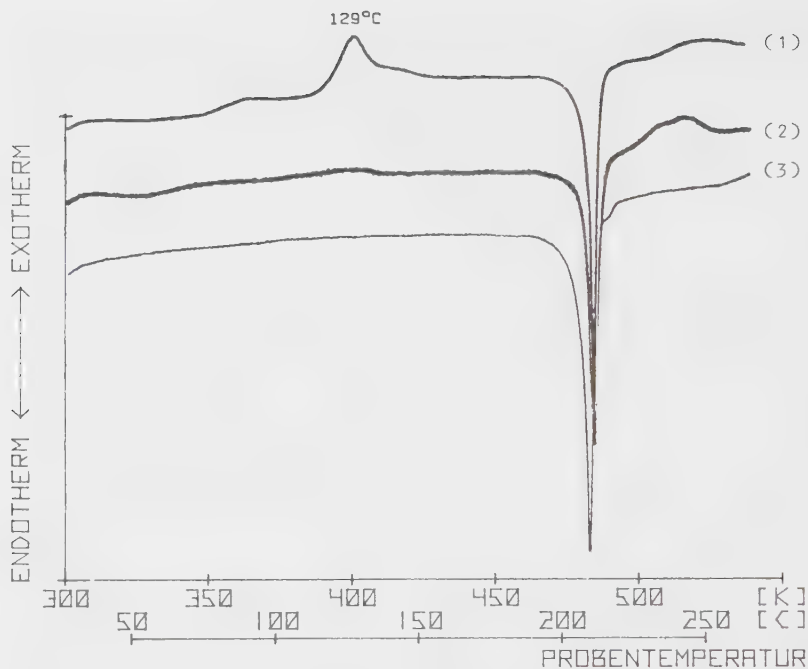


Abb. 19 DTA-Kurven von BA-Produkten aus Lösungen von:

- 1) Chloroform
- 2) Aceton
- 3) Isopropanol bei 323 K (50 °C) und 100 hPa

Während bei den Lösungsmitteln Aceton und Isopropanol nur die α -Modifikation anfällt, ist dies beim Chloroformprodukt nicht der Fall. Hier wird offensichtlich neben dieser Modifikation teilweise amorphes Produkt gebildet, das bei ca. 402 K (129 °C) kristallisiert (exothermer Peak). Die Tatsache, daß unter den Bedingungen der Rotationsverdampfung mit chloroformhaltigen Lösungen auch kristalline in amorphe Zustände überführt werden, wurde in unserem Arbeitskreis am Beispiel des Digoxins, das auf diese Weise "schaumgetrocknet" wurde, nachgewiesen. Auch in diesen Fällen traten exotherme Auslenkungen unterhalb des Schmelzbereiches auf (105).

Ob diese Herstellungsmethode am Rotationsverdampfer grundsätzlich immer die Ausbildung von Modifikationsgemischen verhindern kann, wurde schließlich mit den Lösungsmitteln Methanol und Ethanol überprüft. Die DTA-Kurven zeigen, daß in diesen Fällen wieder Mischungen mehrerer Modifikationen anfallen (s. Abb. 17 und 20).

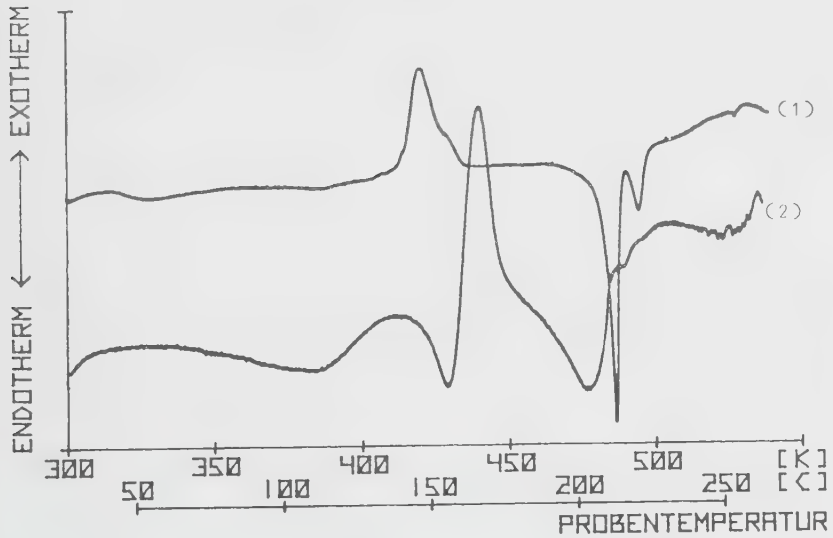
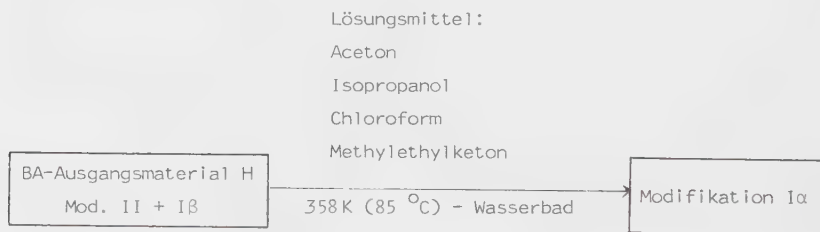


Abb. 20 DTA-Kurven von BA-Produkten aus Lösungen von:

- 1) Ethanol
- 2) Methanol bei 323 K (50 °C) und 100 hPa

3.4.1.4. Ergebnis der Kristallisationsversuche

Als einzige reine Modifikation konnte bei Verdampfung des Lösungsmittels unter Atmosphärendruck auf dem Wasserbad 358 K (85°C) mit den Lösungsmitteln Chloroform, Ethylmethylketon, Aceton und Isopropanol die neue I α -Modifikation von BA dargestellt werden. Durch den Lösungsmittelentzug mittels Rotationsverdampfer kann man nur dann die reine I α -Modifikation gewinnen, wenn Aceton und Isopropanol eingesetzt werden. Die anderen Lösungsmittel oder Variation der Versuchsbedingungen haben normalerweise die Bildung von Nebenprodukten zur Folge. Sämtliche Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefaßt (Tab. 2); die einfachste Darstellungsmethode für die I α -Form läßt sich folgendermaßen angeben:



3.4.2. Ausfällungen in Wasser

Während bei den bisher beschriebenen Versuchen der Einfluß jeweils eines definierten Lösungsmittels auf die Kristallform studiert werden sollte, mußte im folgenden das technisch verbreitete Ausfällungsverfahren genauer untersucht werden. Von den Möglichkeiten, definierte Kristallformen durch Fällen der in einem geeigneten Solvens gelösten Substanz in einem "Nicht-lösungsmittel" zu erhalten, wurde lediglich die Ausfällung von BA-Lösungen in Wasser untersucht. Dabei sollte u.a. der Tatsa-

Tabelle 2: Gewinnung von BA-Modifikationen aus organischen Lösungsmitteln

Lösungsmittel	II(150-160 ^o C) (423-433 K)	IIα(205-212 ^o C) (478-485 K)	IIβ(213-220 ^o C) (486-493 K)	sonstige Auslenkungen
Wasserbad 358-363 K (85-90 ^o C)				
a) <u>Suspensionen:</u>				
Cyclohexan	+	+	+	+
Ether	+	-	+	+
Tetrachlorkohlenstoff	-	+	-	(+)
b) <u>Lösungen:</u>				
Methanol	+	-	+	+
Ethanol	-	+	+	+
Dimethylformamid	-	+	-	+
Methylenchlorid	-	+	-	+
Acetonitril	-	+	+	-
Methylethylketon	-	+	-	-
Chloroform	-	+	-	-
Aceton	-	+	-	-
Isopropanol	-	+	-	-
bei 293 K (25 ^o C)				
Aceton	(+)	(+)	+	
Isopropanol	+	-	+	+
Chloroform	(+)	(+)	+	
Rotationsverdampfer 323 K (50 ^o C) (100 hPa)				
Chloroform	-	+	-	+
Aceton	-	+	-	-
Isopropanol	-	+	-	-
Ethanol	-	+	+	+
Methanol	+	?	?	+

+ Peak vorhanden / - kein Peak vorhanden / (+) schwache Auslenkung

che Rechnung getragen werden, daß die Ausgangssubstanz auf solchem Wege erhalten wurde und das wichtige therapeutische Einsatzgebiet von BA die Kristallsuspension darstellt. Eine derartige verfahrenstechnische Maßnahme könnte folgende nicht unwesentliche Vorteile mit sich bringen:

- 1) Durch die Art der Ausfälltechnik kann die Teilchengröße so günstig sein, daß keine Mahlung mehr erforderlich ist.
- 2) Durch Verzicht auf den Trocknungsvorgang ist eine Reagglomeration der Partikel u.U. vermeidbar.
- 3) Falls eine Hydratbildung stattfindet, so könnte sie bereits im Zuge der Herstellung erfolgen.
Dies ist für Fluprednylidenacetat (16) und Dexamethasonacetat (23) beschrieben worden.

3.4.2.1. Bedeutung des organischen Lösungsmittels

Im DTA-Kurvenverlauf der Abbildung 12 kam zum Ausdruck, daß ein analog dem Ausgangsprodukt durch Ausfällung einer acetonischen Lösung in Wasser gewonnenes BA auch ein Modifikationsgemisch darstellt. Es sollte nun durch Variation des Lösungsmittels festgestellt werden, ob neue Modifikationen durch diese Parameteränderung zu erzielen waren.

Als Lösungsmittel wurden Aceton, Isopropanol und Methanol eingesetzt. Die Mengenverhältnisse waren bei allen Versuchen die gleichen wie bei der schon beschriebenen Acetonausfällung. So wurde jeweils 1 g BA in 15 ml Solvens gelöst und in 80 ml H₂O von 353 - 363 K (80 - 90 °C) unter kontinuierlichem Rühren mit einem Magnetrührer (s. S. 30) ausgefällt, filtriert und bei 323 K (50 °C) im Vakuum getrocknet. Mögliche Unterschiede der Ausfällung wurden mit dem nicht wassermischbaren Chloroform unter den gleichen Bedingungen untersucht. Außer der an den Lösungsmittelgrenzflächen erfolgenden Fällung konnten jedoch keine Unterschiede beobachtet werden.

In allen Fällen konnten Produkte erhalten werden, deren DTA-Kurven den in Abbildung 12 dargestellten Verlauf aufwiesen. Stellvertretend für alle sei hier der Kurvenverlauf der Methanol-ausfällung aufgeführt (Abb. 21).

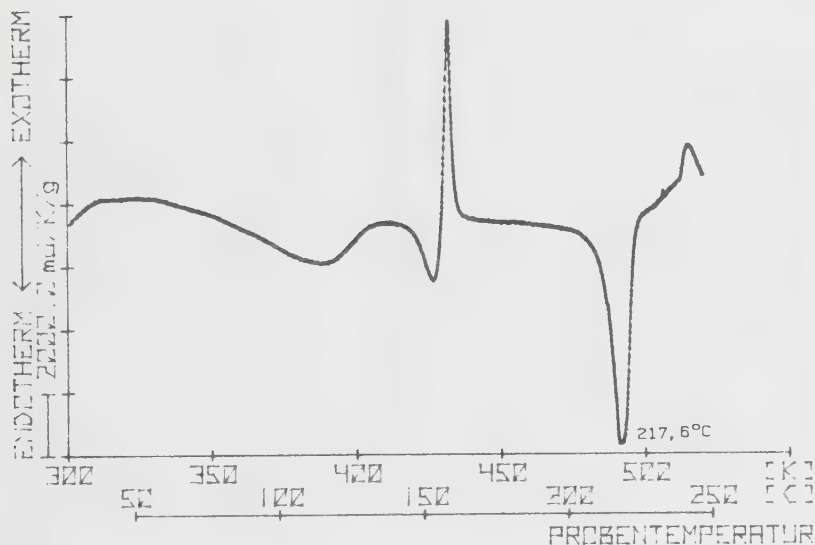


Abb. 21 DTA-Kurve von BA-Methanol/Wasser-Ausfällung

Wenn man aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse den Schluß ziehen muß, daß ausgefällte Produkte (aus Aceton, Isopropanol, Chloroform) die I β -Form enthalten, so fällt auf, daß die gleichen Lösungsmittel ohne Anwesenheit von H₂O beim Abdestillieren auf dem Wasserbad die reine I α -Modifikation erhalten lassen. Angesichts dieses Sachverhaltes wurden die Ausfällungen mehrfach wiederholt. Dabei zeigte sich, daß die Lage des Schmelz- und Zersetzungspeaks in einigen Fällen nun auch im Bereich

der α -Modifikation zu finden war oder daß Schultern in diesem Kurvenabschnitt auf ein teilweises Vorliegen dieser Kristallform hindeuteten (Abb. 22).

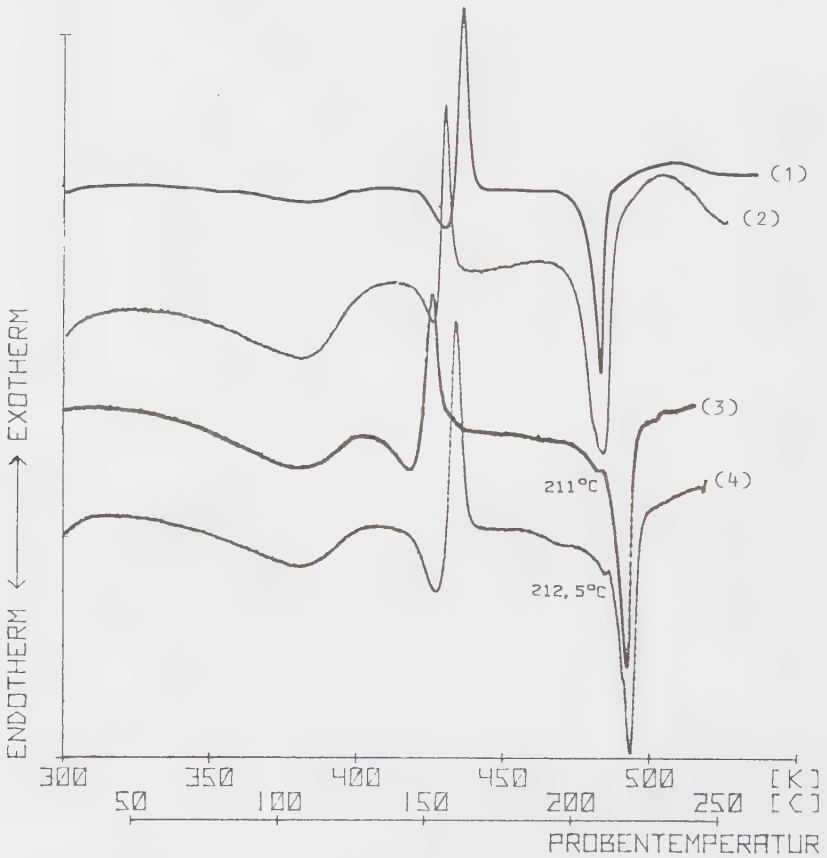


Abb. 22 DTA-Kurven von BA-Ausfällungen in Wasser:

- 1) Isopropanol
- 2) Methanol
- 3) Isopropanol
- 4) Aceton

Gründe für ein solches Verhalten sind nur schwer auffindbar. So kann man diskutieren, daß es während des Trocknungsprozesses noch zu Umwandlungen kommen könnte, da der Filtrerrückstand einer bewußt 2 Tage nach Abkühlung weitergerührten Suspension, deren Rückstand nach Herstellung den $I\alpha$ -Peak aufwies, dann in der DTA die $I\beta$ -Modifikation andeutete.

3.4.2.2. Bedeutung des Trocknungsprozesses

Wenn man also Produkte mit $I\alpha$ -Form erhalten möchte, so muß der Trocknungsprozeß einen möglichst raschen H_2O -Entzug gewährleisten. Daher wurden in weiteren Versuchen frisch gefällte Suspensionen sofort sprühgetrocknet, da ja dieses Verfahren die schnellste und substanzschonendste Trocknungsmethode ist (90). Es mußte also während der Trocknung nicht mit Veränderungen der angefallenen Kristalle gerechnet werden.

Der Fällungsprozeß erfolgte in der beschriebenen Weise bei 353 - 363 K (80 - 90 °C), was innerhalb von 30 - 60 min. abgeschlossen war. Die noch heiße Suspension wurde auf einer Sprühtrocknungslaborapparatur mittels einer Zweistoffdüse mit Düsenreinigungsnadel sprühgetrocknet. Eingangs- und Ausgangstemperatur lagen bei 433 K (160 °C) bzw. 373 K (100 °C). Die DTA-Kurve des Sprühtrocknungsproduktes zeigte nun bei sofort getrockneter Suspension das Auftreten eines Peaks im Bereich der $I\alpha$ -Phase. Im Gegensatz dazu wurde bei der DTA-Kurve einer zuvor zwei Tage gerührten, sprühgetrockneten Suspension der Schmelzpeak der $I\beta$ -Modifikation im Gemisch beobachtet (Abb. 23).

Unter den gleichen Bedingungen durchgeführte Wiederholungsversuche zeigten, daß auch sofort versprühte Suspensionen DTA-Kurven mit $I\beta$ -Modifikation liefern können. Allerdings war bei länger gerührten Suspensionen weder im Fall der "normal" getrockneten (323 K, Vakuum) Filtrerrückstände noch bei den Sprühtrocknungsprodukten das Auftreten der $I\alpha$ -Modifikation beobachtet worden.

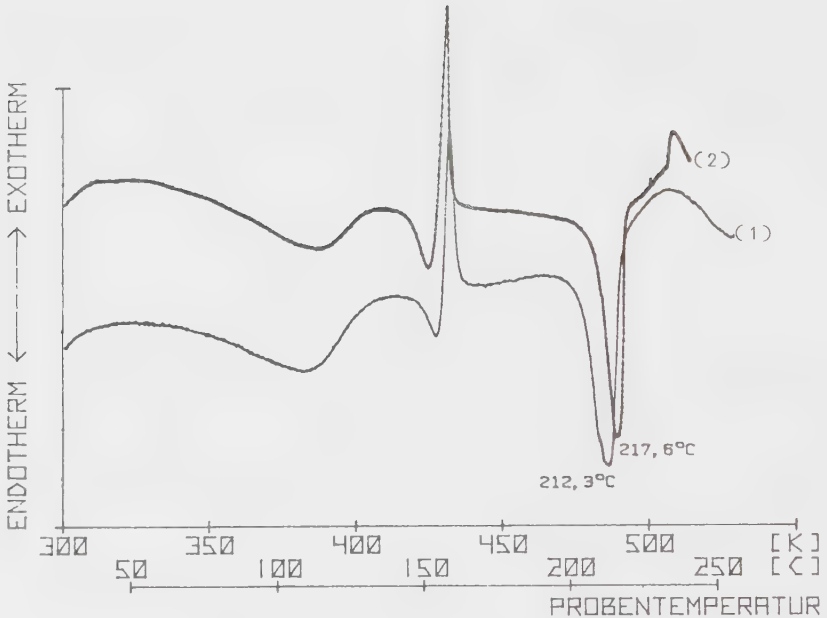


Abb. 23 DTA-Kurven von sprühgetrockneten BA-Ausfällungen:

- 1) Methanol/Wasser-Ausfällung nach Herstellung sprühgetrocknet
- 2) Methanol/Wasser-Ausfällung nach 2 Tagen sprühgetrocknet

Aufgrund dieser Befunde ist die Annahme gerechtfertigt, daß bei den Ausfällungsprodukten in statu nascendi zunächst die $I\alpha$ -Modifikation entsteht, die sich mit einer bestimmten Geschwindigkeit in die $I\beta$ -Modifikation umlagert. Dabei spielen wahrscheinlich auch Impfkristalle der $I\beta$ -Form eine Rolle, so daß unter bestimmten Voraussetzungen die $I\beta$ -Modifikation bereits sofort bei der Ausfällung entstehen kann.

Die thermodynamisch stabilere Form ist die $I\beta$ -Modifikation, so daß der Umwandlungsmechanismus $I\alpha \rightarrow I\beta$ angenommen werden kann.

Für diese Aussage spricht auch die später (s. S. 92) erläuterte Beobachtung, wonach $I\alpha$ -BA bei Anwesenheit von Impfkristallen von $I\beta$ zu einem Anstieg der Konzentration von $I\beta$ führt. Der umgekehrte Vorgang konnte nicht beobachtet werden.

3.4.2.3. Bedeutung weiterer Fällungsparameter

Eine andere Einflußgröße auf das Entstehen bestimmter Modifikationen sollte die Fällungstemperatur sein. Dabei wären für den vorliegenden Fall zwei Möglichkeiten denkbar:

1. Bei niedrigerer Temperatur könnte infolge einer rascheren Ausfällung die Ausbildung der $I\alpha$ -Form begünstigt werden.
2. Bei höherer Temperatur könnte durch den längeren Kontakt der Ausfällungen mit Wasser die Umbildung in eine stabilere, die $I\beta$ -Modifikation, begünstigt werden.

Versuchsreihen, in denen systematisch die

- Temperatur des wässrigen Mediums

geändert wurde, vermochten jedoch ebenso wenig wie die Variation der Fällungsparameter

- Temperatur der BA-Lösung im organischen Milieu
- Zutropfgeschwindigkeit

die Darstellung einer der reinen Modifikationen - $I\alpha$ oder $I\beta$ - zu ermöglichen.

Es resultierten immer Gemische, in denen das Verhältnis der verschiedenen Komponenten nicht in Relation zu den Versuchsparametern gesehen werden konnte.

Aufgrund der bisherigen Versuchsergebnisse kann daher die Aussage getroffen werden, daß die Darstellung der reinen Modifikation $I\alpha$ nur unter alleiniger Verwendung von organischen Lösungsmitteln gelingt.

Bei allen Fällungsproben liegt jedoch immer auch die Modifikation II vor. Die beschriebenen Prozesse haben also, unabhängig von Lösungsmittel oder Verfahrensbedingungen, die Ausbildung dieser Kristallform zur Folge. Auch eine Tendenz zu einem häufigeren Auftreten der thermodynamisch begünstigten I β -Phase wird deutlich.

Die weiteren experimentellen Bemühungen sollten sich nun auf die Darstellung der reinen I β -Modifikation konzentrieren.

3.4.3. Thermische Einflüsse

Polymorphe Phasenumwandlungen laufen durch thermische Energiezufuhr rascher ab bzw. erfolgen erst nach Erreichen einer bestimmten Temperatur. Sie können reversibel oder irreversibel sein, je nachdem, ob die Substanz zur Klasse der enantiotropen oder der monotropen Polymorphen gehört (3,10). Bei Betamethasonacetat mußte deshalb auch untersucht werden, welche Auswirkungen Temperaturerhöhung auf das Ausgangsprodukt H oder bereits hergestellte Modifikationen hat.

3.4.3.1. Interpretation des ersten endothermen DTA-Signals von BA-H

So interessierte zunächst die möglicherweise auf Lösungsmittelreste hinweisende erste endotherme Auslenkung der DTA-Kurven des Ausgangsmaterials H (s. Abb. 1) zwischen ca. 340 K (67 °C) und 410 K (137 °C). Sollte sie mit dem Restwassergehalt in Verbindung zu bringen sein, so war nicht unbedingt zu erwarten, daß sie bei entsprechendem Trocknen bei 378 K (105 °C) vollständig verschwinden würde. Der Grund für diese Annahme ist aus einer Forderung der USP XX (78) abzuleiten, die einen Wassergehalt von 4 % nach dreistündiger Trocknung bei 105 °C zuläßt. Die DTA-Kurve der entsprechend vorbehandelten Substanz

zeigte indes auch keinerlei Unterschied zum Ausgangsmaterial H. Würde man nun bis zu einer Temperatur aufheizen, bei der die vermutete Lösungsmittelabgabe abgeschlossen sein müßte, so sollte beim erneuten Aufheizen der Probe keine endotherme Auslenkung mehr im angegebenen Bereich aufzufinden sein. Erstaunlicherweise zeigte auch ein durch einstündiges Tempern im Trockenschrank bei 418 K (145 °C) - hier verlief die DTA-Kurve auf der Basislinie - gewonnenes Produkt die gleiche endotherme Auslenkung. Auch eine rasche Abkühlung von 478 K (145 °C) auf 293 K (20 °C) mit einer Geschwindigkeit von 20 K/min. führte zu keinem anderen Ergebnis. Die gleiche Technik wandte THRON für die Identifizierung von Prednisolonethanolisolvat erfolgreich an (11).

Trotz des starken Aufheizens war also immer die gleiche charakteristische Auslenkung zu beobachten. Da sie jedoch praktisch nur bei Produkten auftrat, die durch den Fällungsprozeß in Wasser gewonnen worden waren, auf der anderen Seite Kristallisate aus organischen Lösungen normalerweise keine derartigen Anzeichen erkennen ließen, mußten thermogravimetrische Untersuchungen zur Klärung dieser Frage beitragen. Eine genaue Interpretation dieser Analysen soll in einem eigenen Abschnitt erfolgen (s. 3.8.5). Als Ergebnis konnte dabei eine reversible Wasserabgabe und -aufnahme bei solchen Fällungsprodukten im Bereich zwischen 333 K (60 °C) und 413 K (140 °C) festgehalten werden.

Bei den Lösungsmittelkristallisaten mit der reinen Ia-Modifikation wurde dies nicht beobachtet. Somit ergibt sich die Erkenntnis, daß diese reversible Wasserbindung an die Anwesenheit der Modifikation II gebunden ist.

3.4.3.2. Interpretation des weiteren DTA-Kurvenverlaufs

Bei ca. 433 K (160 °C) findet der in der DTA und im Polarisationsheizmikroskop nachweisbare Schmelzprozeß der Modifikation II statt. Unmittelbar daran anschließend bzw. simultan verlaufend erfolgt eine Kristallisation der Form I, was in der DTA an einer stark exothermen Auslenkung sichtbar ist.

Eine Probe der Ausgangssubstanz H wurde nun auf 433 K (160 °C) aufgeheizt und sofort mit -20 K/min. "schockgekühlt". Ein zweites Aufheizen der gleichen Probe zeigte nun in der DTA das erste endotherme Signal zwischen 340 K (67 °C) und 410 K (137 °C) nicht mehr. Allerdings war auch der Schmelzpeak von Modifikation II nicht mehr zu erkennen (Abb. 24). Bei Abwesenheit der Modifikation II bleibt also tatsächlich die reversible Wasseraufnahme aus.

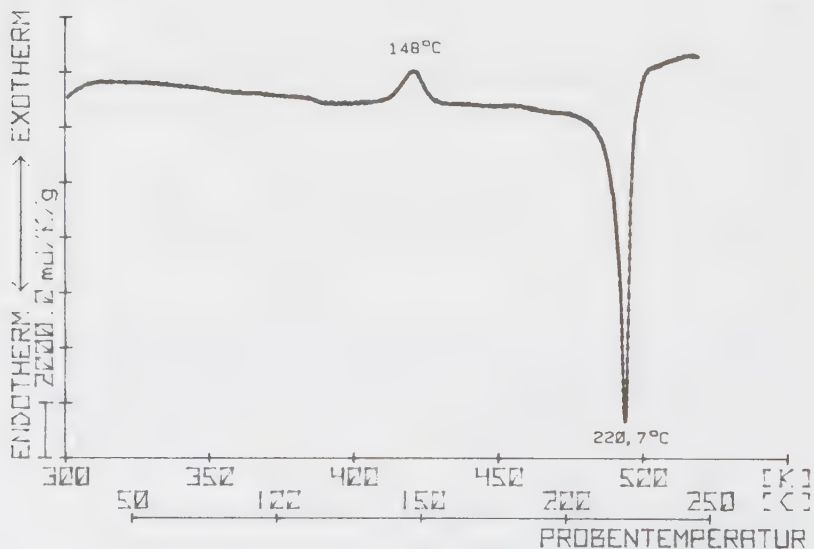
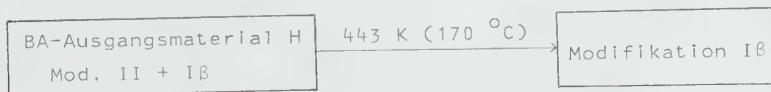


Abb. 24 DTA-Kurve des 2. Aufheizens einer Probe von BA-H, vorbehandelt durch Aufheizen auf 433 K (160 °C) und "Schockkühlung" (-20 K/min.)

Die vollständige Umwandlung in I β -Modifikation war jedoch - durch die Schockkühlung bedingt - noch nicht abgeschlossen, was die exotherme Auslenkung, allerdings bereits bei ca. 421 K (148 °C), belegt (Abb. 24). Die Depression des exothermen Peaks von ca. 438 K (165 °C) auf 421 K (148 °C) darf nicht zwingend mit dem Auftreten eines neuen Zustandes interpretiert werden, da ein Peak nicht immer bei der Temperatur des Umwandlungspunktes zu Tage treten muß (3).

3.4.3.3. Untersuchungen zum dritten endothermen Signal

Das endotherme Signal bei 493 K (220 °C) zeigte das Vorliegen der I β -Modifikation an. Nachdem die Versuche, durch Einwirken verschiedener Lösungsmittel die reine I β -Form zu erhalten, nicht zum Ziel führten, sollte nun die Frage geprüft werden, ob durch gezielte thermische Behandlung die Reindarstellung gelingen kann. KUHNERT-BRANDSTÄTTER und GASSER (19) beschreiben diese Möglichkeit für die von ihnen als Modifikation I (205 - 214 °C) bezeichnete Form, ohne daß jedoch auf die Existenz einer I α - und I β -Phase hingewiesen wurde. Durch Tempern der Ausgangssubstanz - im Trockenschrank oder im DTA-Ofen - bei Temperaturen zwischen 438 K (165 °C) und 463 K (190 °C) war es grundsätzlich möglich, die I β -Phase rein darzustellen (s. Abb. 25):



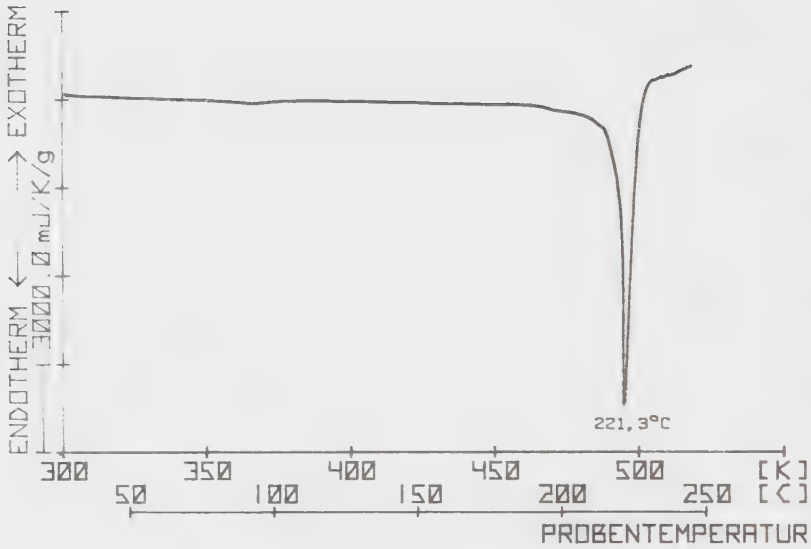


Abb. 25 DTA-Kurve eines bei 443 K (170 °C) getemperten
BA-H: Iβ-Modifikation

Dabei fiel auf, daß die Dauer des Temperns von untergeordneter Bedeutung ist; wird die Temperaturschwelle von 438 K (165 °C) von der Substanz erreicht, so findet die Umwandlung innerhalb weniger Minuten statt.

Somit konnte nachgewiesen werden, daß die Reindarstellung der Iα-Form nur durch Lösungsmittelkristallisation und die der Iβ-Modifikation nur thermisch möglich ist.

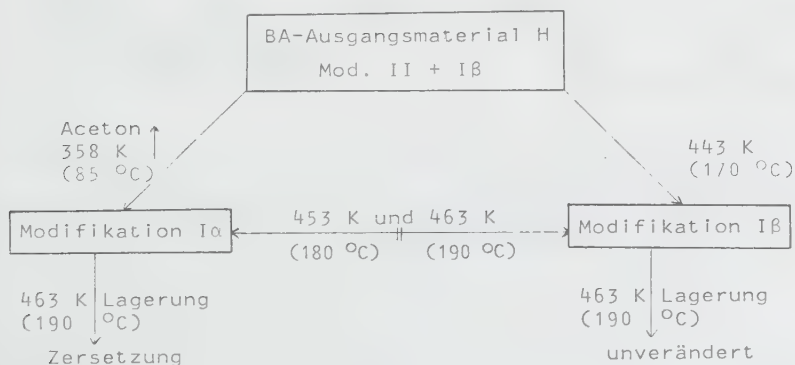
3.4.3.4. Thermische Effekte auf neu gewonnene Produkte

Nun mußte auch der thermotrope Einfluß auf neue Modifikationen oder Modifikationsgemische untersucht werden.

I α -Modifikation

Im folgenden sollte an dieser Modifikation geprüft werden, ob durch Lagerung unterhalb des Schmelzbereichs Veränderungen zu beobachten waren. Dazu wurden I α -Proben 72 h bei 453 K (180 °C) und 12 h bei 463 K (190 °C) im Trockenschrank gelagert. Während im ersten Fall selbst nach drei Tagen noch keine Veränderung der Substanz zu beobachten war, führte die Lagerung bei 463 K (190 °C) bereits zur Zersetzung der Substanz, ohne daß es zu einer sichtbaren Umwandlung in die höher schmelzende I β -Modifikation kam. Dies ließ sich durch eine Verfärbung und das Fehlen von exo- und endothermen Auslenkungen in der DTA nachweisen. Auch die Methode der Schockkühlung (-20 K/min.), nach Aufheizen der I α -Phase im DTA-Tiegel auf 478 K (205 °C), erbrachte keinen Hinweis auf eine Umwandlung in die I β -Modifikation, sondern führte zu einem Zersetzungsprodukt. Somit ist die Folgerung gerechtfertigt, daß die thermotrope Gewinnung der I β -Form an die Anwesenheit der Modifikation II und einen gewissen Anteil von I β gebunden ist.

Schematisch können die Vorgänge wie folgt dargestellt werden:



Man kann nun die Frage stellen, ob $I\alpha$ und $I\beta$ überhaupt zwei unterschiedliche Modifikationen sind. Außer durch die später beschriebenen röntgendiffraktometrischen Untersuchungen wurde dies durch spezifische DT-Analysen geklärt. Dazu wurde eine homogene Mischung aus gleichen Teilen der $I\alpha$ - und der $I\beta$ -Modifikation hergestellt. Die DTA-Kurve zeigt nun deutlich zwei Schmelzpeaks (Abb. 26). In diesem Zusammenhang sei nochmals darauf hingewiesen, daß auch bei der Kristallisation aus Ethanol und Cyclohexan beide Modifikationen nebeneinander vorliegen.

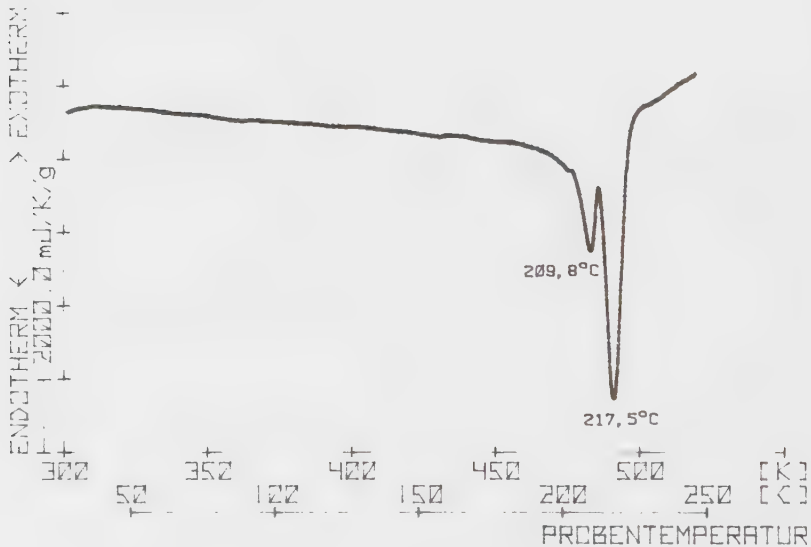


Abb. 26 DTA-Kurve von $BA-I\alpha + BA-I\beta$ (1+1)

Damit konnte nachgewiesen werden, daß es sich bei der $I\alpha$ -Phase wirklich um eine neue Form handelt.

Alle Ausfällungsprodukte, die neben Modifikation II noch Modifikation I α oder I α und I β enthielten, konnten nicht in die reine I β -Form überführt werden, da sie immer noch Anteile von I α -Form enthalten. In allen Fällen wurde nach Umwandlung der Modifikation II das Vorliegen der im Modifikationsgemisch aufgetretenen zweiten Kristallform - I α oder I β - bestätigt. Die DTA-Kurven dieser Temperprodukte unterschieden sich nicht signifikant von denen der rein dargestellten Modifikationen. Auch das Auftreten von I α -und I β -Form nebeneinander konnte durch die Temperatureinwirkung nicht beeinträchtigt werden (Abb. 27).

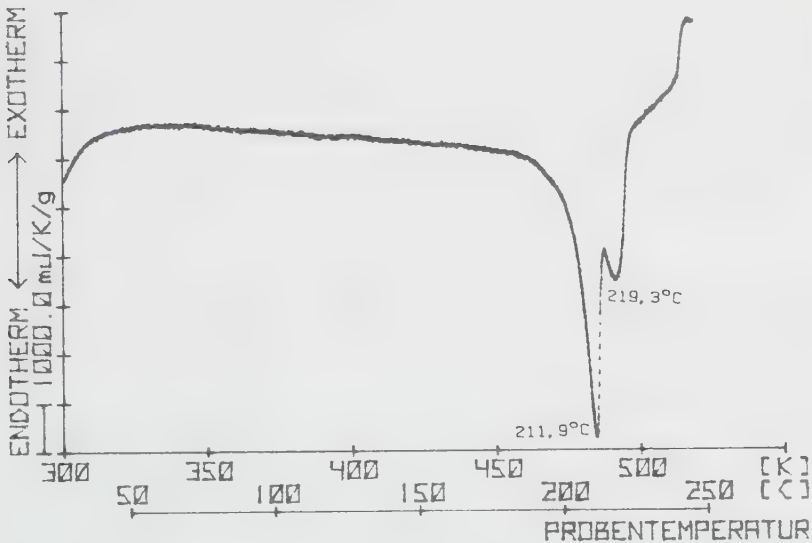
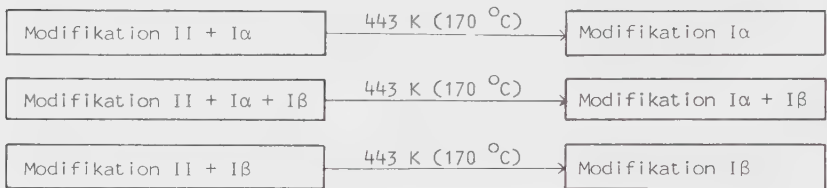


Abb. 27 DTA-Kurve einer bei 448 K (175 °C) getemperten BA-Ausfällung, die vor dem Tempern die Modifikationen II, I α und I β enthielt

Schematisch kann dies wie folgt dargestellt werden:



Eine deutliche Unterscheidung der Formen $I\alpha$ und $I\beta$ - auch in den Fällungsprodukten - ist bei diesen Temperaturen ($> 433\text{ K}$ ($> 160\text{ }^{\circ}\text{C}$)) möglich, was durch Röntgendiffraktometrie erhärtet werden konnte (s. S. 110). In einfachster Weise ermöglicht schon eine ein- bis dreistündige Lagerung bei 493 K ($190\text{ }^{\circ}\text{C}$) im Trockenschrank eine deutliche Differenzierung. Während bei Modifikation $I\alpha$ bereits eine durch Braunfärbung indizierte Zersetzung sichtbar wird, bleibt Modifikation $I\beta$ unter diesen Bedingungen unverändert (vgl. Schema S. 59).

3.4.3.5. Zusammenfassung von Kapitel 3.4.3.

Zusammenfassend kann über die Temperatureinwirkung folgendes ausgesagt werden:

1. Eine vollständige Trocknung zur wasserfreien Substanz ist bei Vorliegen der Modifikation II nicht möglich.
2. Aus den Fällungsprodukten, die ja immer die Modifikation II mit enthalten, kann man durch Tempern bei ca. 438 K ($165\text{ }^{\circ}\text{C}$) eine bereits vorliegende $I\alpha$ - oder $I\beta$ -Modifikation rein darstellen. Dies ist der bislang einzige Weg, auf dem die Herstellung der reinen $I\beta$ -Modifikation gelingt.

3. Demnach bewirken Kristallkeime der $I\alpha$ - oder $I\beta$ -Form die Umwandlung in diese Modifikationen.
4. Thermotrope Umwandlung von $I\alpha$ - nach $I\beta$ -Phase und der inverse Prozeß sind nicht möglich.

3.4.4. Sprühtrocknung von Betamethasonacetat

In den vorangegangenen Abschnitten ist jeweils von kristallinen Phasen des BA berichtet worden. Es interessierte nun grundsätzlich die Frage, ob es möglich ist, eine metastabile amorphe BA-Form herzustellen. Amorphe Produkte schwerlöslicher Verbindungen zeichnen sich bekanntlich oft durch erhöhte Lösungsgeschwindigkeit, die Ausbildung übersättigter Lösungen und eine Tendenz zur Rekristallisation aus (90,97). Dies könnte sie für einen Einsatz in Kristallsuspensionen nur bedingt geeignet erscheinen lassen, da dann auch mit stärkerem Kristallwachstum gerechnet werden müßte. Für BA sollte auch diese Frage entsprechend geprüft werden.

NÜRNBERG wies schon 1970 auf die verbesserte Lösungsgeschwindigkeit von gesprühten Arzneistoffen hin (90), wobei er auch Dexamethasonacetat untersuchte. 1976 konnte er von dem Nachweis eines röntgenamorphen Zustandes von rein gesprühtem Digitoxin berichten (98). Auch KOHL gelang es von dem Corticosteroid 9- α -Fluprednylidin-21-acetat eine sprühgetrocknete, amorphe Reinsubstanz zu gewinnen (48), die allerdings bei Lagerung relativ rasch rekristallisierte. Andere Steroidester - z.B. Prednisolonacetat - konnten ohne Zusatz von stabilisierenden Kolloiden nicht vollständig in den röntgenamorphen Zustand überführt werden (98).

Auf der Sprühtrocknungs-Laborapparatur wurde eine 10proz. Lösung von BA in Chloroform/Methanol (7+3) versprüht. Eingangs- und Ausgangstemperatur wurden mit ca. 383 K (110 °C) und 358 K (85 °C) weitgehend konstant gehalten. Es fiel - polarisationsmikroskopisch betrachtet - ein isotropes, kugelförmiges Produkt an, das bei der Differentialthermoanalyse einen exothermen Peak bei 406 K (133 °C) und einen endothermen Schmelzpeak bei 486 K (213 °C) aufweist (Abb. 28).

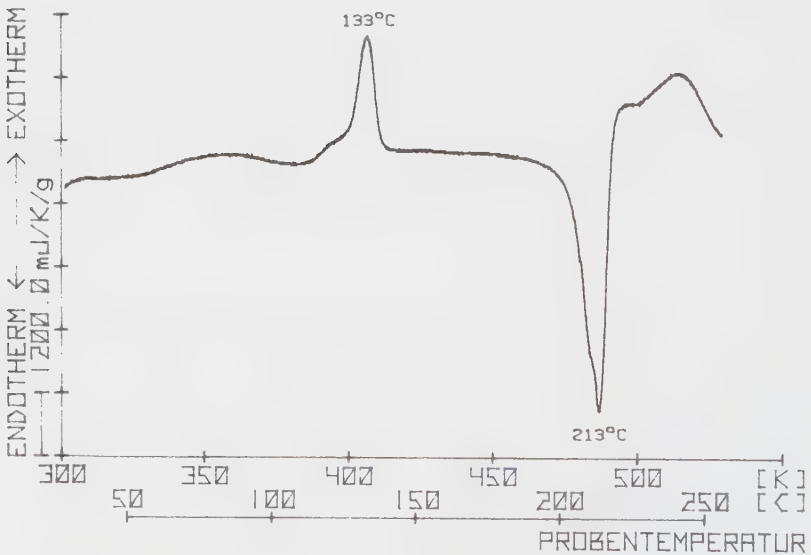


Abb. 28 DTA-Kurve von sprühgetrocknetem BA

Die exotherme Auslenkung kann dabei als Rekristallisation interpretiert werden, was durch polarisationsmikroskopische Untersuchungen am Heizmikroskop bewiesen wurde. Es wird in die-

sem Temperaturbereich das Auftreten einer die Anisotropie anzeigenden Farbe beobachtet.



Es erhebt sich die Frage, welche der als I bezeichneten Modifikationen (I α oder I β) hierbei thermotrop gebildet wird. Der DTA-Schmelzbereich legt die Vermutung nahe, daß es sich um I α handelt. Allerdings könnte auch eine durch "Verunreinigung" des nicht vollständig kristallisierten Ausgangsproduktes bedingte Schmelzpunktdepression vorliegen. Im Röntgendiffraktogramm konnte das Vorliegen von I β -BA nachgewiesen werden (s. S. 113).

Da der Lösungsmiteleinfluß auf die Eigenschaften von Sprühtrocknungsprodukten bekannt ist (99), sollte auch versucht werden, den Steroidester aus reinem Lösungsmittel - und nicht einem Gemisch - zu versprühen. So wurde das nicht explosible Chloroform ausgewählt, zumal bei den in Kapitel 3.4.1. beschriebenen Kristallisaten aus diesem Solvens eine reine I α -Modifikation erhalten werden konnte. Das unter den eben beschriebenen Bedingungen gewonnene Sprühtrocknungsprodukt zeigte kein unterschiedliches Erscheinungsbild im Polarisationsmikroskop. Auch die DTA-Kurve mit einer exothermen Auslenkung bei ca. 402 K (129 °C) und dem endothermen Peak bei 490 K (217 °C) wies einen ähnlichen Verlauf auf.

So konnte also in beiden Fällen ein amorphes Produkt erhalten werden; ein Einfluß auf die Eigenschaften des Sprühproduktes durch Zusatz von Methanol zum Chloroform schien danach nicht gegeben zu sein. Ob die physikalische Identität beider Produkte auch nach Lagerung erhalten blieb, sollte im Rahmen der Stabilitätsuntersuchungen überprüft werden.

Mit den in diesem Kapitel beschriebenen Methoden konnte die Reindarstellung der in der DTA immer wieder beobachteten Modifikation II nicht erreicht werden. Auf den Nachweis der reinen Form II wird in Kapitel 3.5.2.1. eingegangen.

3.5. Tribomechanische Behandlung von Betamethasonacetat

3.5.1. Trockenmahlung

Zur Erzielung feinpartikulärer Wirkstoffe, z.B. für Kristallsuspensionen oder Salben, können drei Verfahren angewendet werden:

1. Trockenmahlung
2. Naßmahlung
3. Ausfällung in einer flüssigen Phase

Pharmazeutisch gebräuchlich sind vor allem die beiden ersten Methoden. Da bekanntlich durch Einfluß mechanischer Energie Phasenumwandlungen polymorpher Substanzen beschrieben werden (100,101), mußte auch für BA geprüft werden, ob bei der Mahlung lediglich eine Teilchenzerkleinerung oder aber zusätzlich eine Modifikationsumwandlung auftritt.

Für die zunächst durchzuführende Trockenmahlung wurde eine RETSCH-Mikroschnellmühle mit Achatmahlgarnitur verwendet. Mörser- und Pistilldrehzahl wurden mit je 50 Skalenteilen gewählt. Eine Mahldauer von 10 min. war in allen Fällen ausreichend, um die gewünschte Mikronisierung zu erreichen.

3.5.1.1. Ausgangsmaterial H

In der DTA-Kurve (Abb. 29) des so behandelten Handelsproduktes H fiel zunächst eine Abflachung der ersten endothermen Auslenkung und ein Verschwinden des Schmelzpeaks von Modifikation II auf. Auffällig war weiterhin ein exothermer Peak bei 418 K (145°C). Bereits DÖLLE konnte auf eine Teilamorphisierung von kristallinem Digoxin hinweisen (5), so daß der exotherme Peak auf die Umwandlung aus einer zumindest teilamorphen Substanz zurückgeführt werden könnte. In Übereinstimmung mit dieser Annahme lag der Schmelzpeak nicht mehr bei 493 K (220°C), sondern zeigte eine Depression - 488 K (215°C). Die Mahlbelastung führte also zu einer Veränderung der Substanz, wenngleich unter diesen Bedingungen keine reine Modifikation erhalten wurde.

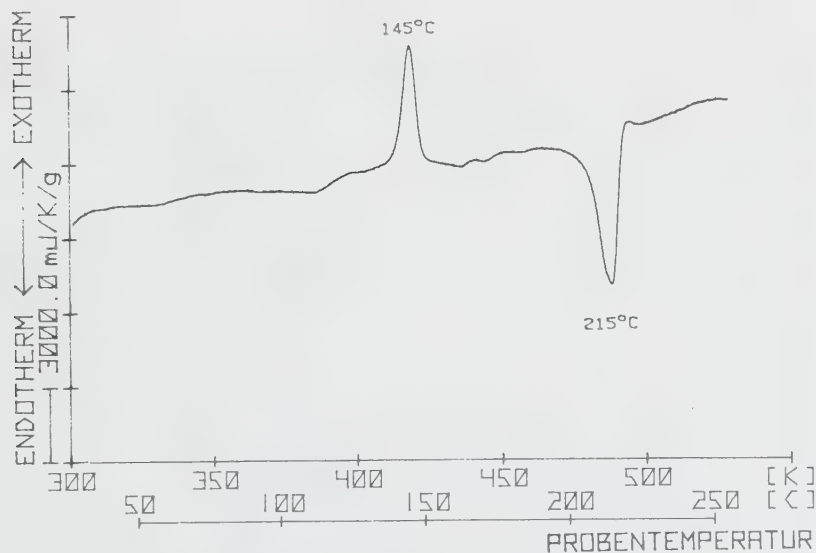


Abb. 29 DTA-Kurve von 10 min. gemahlenem BA-H

BA-Ausgangsmaterial H
Mod. I! + Iß

tribotrop

teillamorphes Iß
(unter bestimmten Bedingungen wenig Iα)

Bei Wiederholungsversuchen, insbesondere bei längerer Mahldauer, fiel eine Verstärkung der exothermen Auslenkung, d.h. eine Zunahme des amorphen Anteils, auf. Zusätzlich wurde eine endotherme Auslenkung bei ca. 465 K - 468 K (192 - 195 °C) beobachtet (Abb. 30). Der Nachweis des ersten endothermen Peaks gelingt nur in Proben, die 10 - 70 min. gemahlen wurden. Nach längerer mechanischer Behandlung wird nur noch das stark ausgeprägte exotherme Signal neben dem Schmelzpeak nachgewiesen. Letzterer weist wieder auf das Vorliegen der Iß-Modifikation hin (491 K - 493 K / 218 - 220 °C).

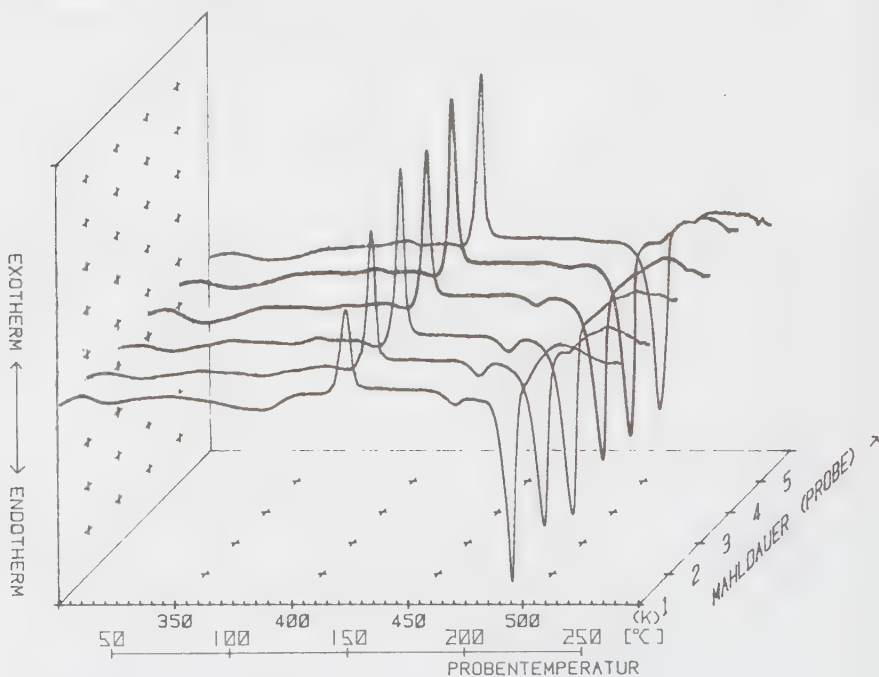


Abb. 30 DTA-Kurven von 10 - 120 min. gemahlenem BA-H

- | | |
|------------|-------------|
| 1) 10 min. | 4) 70 min. |
| 2) 30 min. | 5) 90 min. |
| 3) 50 min. | 6) 120 min. |

Diese Effekte - sowohl der verbreiterte Schmelzpeak bei 488 K (215 °C) im einen (Abb. 29), als auch die zusätzliche Auslenkung bei 465 K - 468 K (192 - 195 °C) im anderen Fall - könnten eine partielle Bildung der I α -Modifikation andeuten. Für diese These spricht, daß beim Zusatz von ca. 10 % reiner I α -Form zu einem Triboprodukt mit einer kleinen endothermen Auslenkung bei ca. 470 K (197 °C) das Signal von I α sichtbar wird.

Wenn man diese These weiterentwickelt, so kann man folgern, daß die I α -Modifikation nur intermediär auftritt, denn bei längerer Mahlung (> 70 min.) wird nur noch das Schmelzsignal von I β beobachtet. Daraus wäre der Schluß zu ziehen, daß eine tribotrope Umwandlung von I α $\rightarrow$ I β möglich ist.

3.5.1.2. I α -, I β - und amorphe Form

Zur experimentellen Klärung dieses Sachverhaltes wurde die reine I α -Form einem 5-minütigen Mahlprozeß unterzogen. Die DTA-Kurve zeigte bereits nach dieser kurzen Zeit tatsächlich eine weitestgehende Umwandlung in die I β -Modifikation an (Abb. 31). Neben der endothermen Auslenkung bei ca. 483 K (210 °C) wurde auch hier der Schmelzpeak der I β -Form bei 492 K (219 °C) beobachtet. Eine leichte exotherme Auslenkung bei ca. 378 K (105 °C) deutet auf eine partielle Amorphisierung hin. Eine genauere Untersuchung dieses Aspektes wird bei der im folgenden beschriebenen Mahlung der I β -Form berücksichtigt.

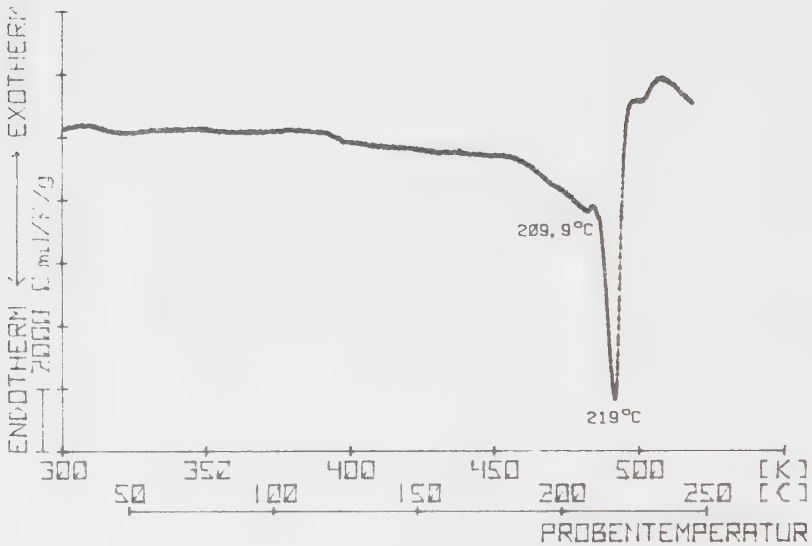


Abb. 31 DTA-Kurve einer 5 min. gemahlene BA-I α -Modifikation

Nun wurde auch die I β -Modifikation tribomechanisch behandelt. Erst eine 10-minütige Mahlung zeigte eine leichte exotherme Auslenkung bei 396 K (123 °C), die bei weiterer Mahlung (30 min.) verstärkt erschien (Abb. 32). So konnte man auf eine tribotrop induzierte Teilamorphisierung der Substanz schließen.



Eine weitere Veränderung, wie z.B. Ausbildung der I α -Modifikation wurde jedoch nicht indiziert.



Zuletzt wurde noch die amorphe Form des Sprühtrocknungsproduktes gemahlen. Eine weitere "Amorphisierung" war hier natürlich nicht zu erwarten. Jedoch konnten durch die mechanische Belastung Rekristallisationen auftreten.

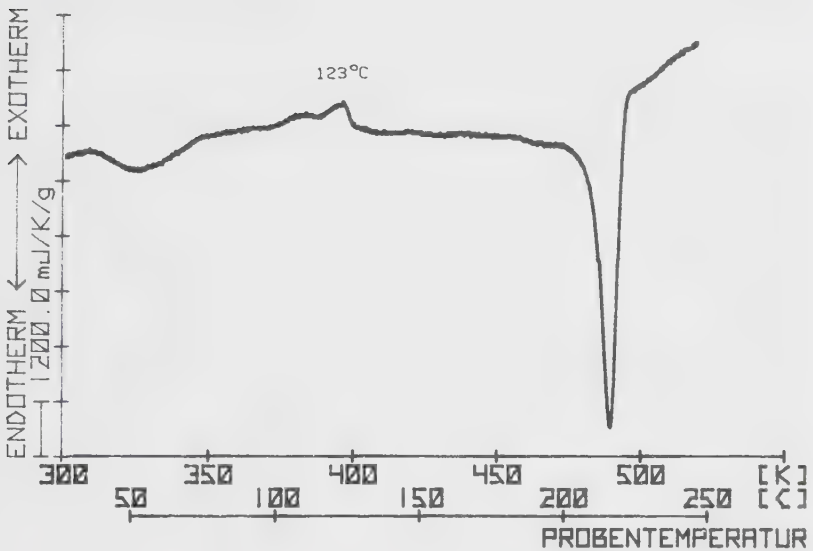


Abb. 32 DTA-Kurve einer 30 min. gemahlene BA-1β-Modifikation

Fünfminütiges Mahlen der Sprühprodukte zeigte – im Polarisationsmikroskop betrachtet – bereits deutliche Anisotropie. Anders als bei DÖLLE (5) konnte das Auftreten parakristalliner Zustände durch tribomechanische Behandlung für BA nicht nachgewiesen werden. Die Verringerung der exothermen Auslenkung im Kurvenverlauf der DTA (Abb. 33) kann bereits als Hinweis für eine partielle Rekristallisation angesehen werden. Das Auftreten einer Schulter vor dem endothermen Schmelzpeak, ähnlich wie bei der gemahlene Ausgangssubstanz, kann auf geringe An-

teile der 1α -Phase hinweisen. Als Hauptanteil der teilkristallisierten Form muß somit die 1β -Modifikation angesehen werden. Auch diese These konnte durch Röntgenbeugungsuntersuchungen (s. S. 113) bestätigt werden.

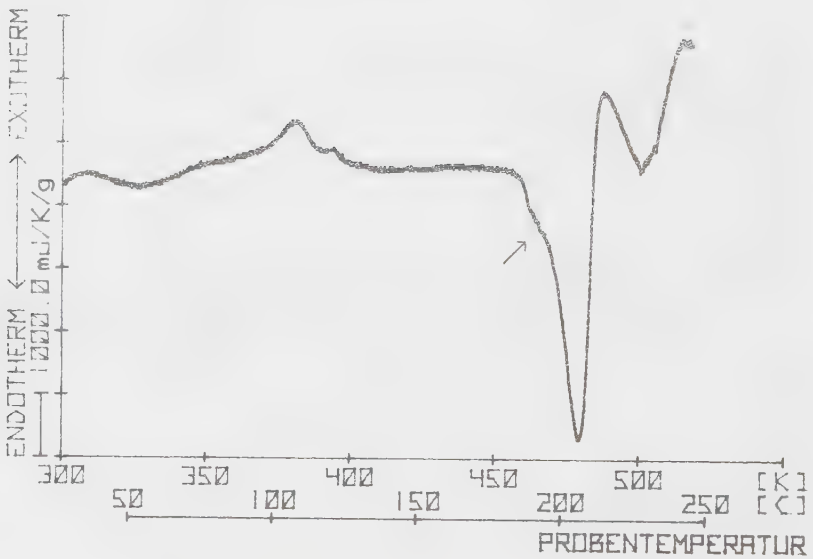


Abb. 33 DTA-Kurve eines 5 min. gemahlene BA-Sprüh-trocknungsproduktes

3.5.1.3. Zusammenfassung zur Trockenmahlung

Die Ergebnisse der Trockenmahlung verschiedener BA-Proben führten zu folgenden Erkenntnissen:

- 1) Eine Veränderung ist am wenigsten bei Modifikation I β zu beobachten.
- 2) Die I α -Form läßt sich tribotrop in die I β -Form überführen.
- 3) Bei genügend langer tribomechanischer Behandlung kristalliner BA-Formen ist eine – durch exotherme Auslenkungen in den DTA-Kurven gekennzeichnete – Teilamorphisierung festzustellen. Eine vollständige Überführung in den amorphen Zustand war unter den gegebenen Bedingungen nicht möglich. Rein amorphe Produkte führen dagegen bei gleicher Bearbeitung zu teilkristallinen Formen.
- 4) Das bedeutet, daß ein zu langer Mahlprozeß bei kristallinen Produkten zu energiereichen Zwischenzuständen führt, die bei der Einarbeitung in eine Kristallsuspension durch die Ausbildung stabilerer BA-Phasen zu Kristallwachstum neigen können.

Bei der Herstellung einer Kristallsuspension ist daher nicht nur die gewünschte Kornfeinheit der Kristalle ausschlaggebend, sondern auch auf Veränderungen im wässrigen Milieu zu achten.

3.5.2. Naßmahlung

Für Arzneiformen, in denen H₂O die Grundlage oder eine wesentliche Komponente darstellt, ist eine Naßmahlung prinzipiell vorzuziehen. Die zu untersuchenden Proben wurden folgendermaßen aufbereitet: Wenn nichts anderes angegeben, wurde ein Teil Substanz mit zehn Teilen Wasser in den Achatmörser der RETSCH-

Mikroschneilmühle gegeben. Mörser- und Pistilldrehzahlen wurden auf 30 bzw. 40 Skalenteile eingestellt, da bei höheren Geschwindigkeiten die Suspensionen über den Mörserrand ausgetragen worden wären. Auch bei diesem Prozeß war nach 10 min. die gewünschte Kornzerkleinerung von 200 μm auf $< 20 \mu\text{m}$ erreichbar. Die Proben wurden filtriert und die Rückstände im Vakuumexsikkator bei Raumtemperatur getrocknet.

3.5.2.1. Ausgangsmaterial H

Zunächst wurde wieder die handelsübliche Ausgangssubstanz H eingesetzt. Naßgemahlene "Pasten" von BA/Wasser 1:1 bzw. 1:2 zeigten nach der Trocknung bei DTA-Untersuchungen im Gegensatz zu den trockengemahlenden Produkten keinerlei Veränderungen gegenüber dem Ausgangsprodukt H. Bei anschließender Trocknung wurde das zuvor beschriebene Verschwinden des Modifikation II-Peaks beobachtet, so daß in diesen Fällen eine Veränderung der Substanzen durch Wassereinwirkung verhindert wurde.

Wegen der geringen Effizienz dieser Probenaufbereitung mit geringem Flüssigkeitsvolumen wurde bei den anderen Mustern auf diese Art der Naßmahlung verzichtet.

Bei einem Verhältnis $\text{BA}/\text{H}_2\text{O}$ 1:10 erbrachte das Bild der DTA (Abb. 34) auch keine wesentlichen Unterschiede zum Ausgangsprodukt, wenngleich die Relation der Signale für Modifikation II und Iß zueinander etwas verändert war und eine Erniedrigung der Peaktemperaturen auftrat.

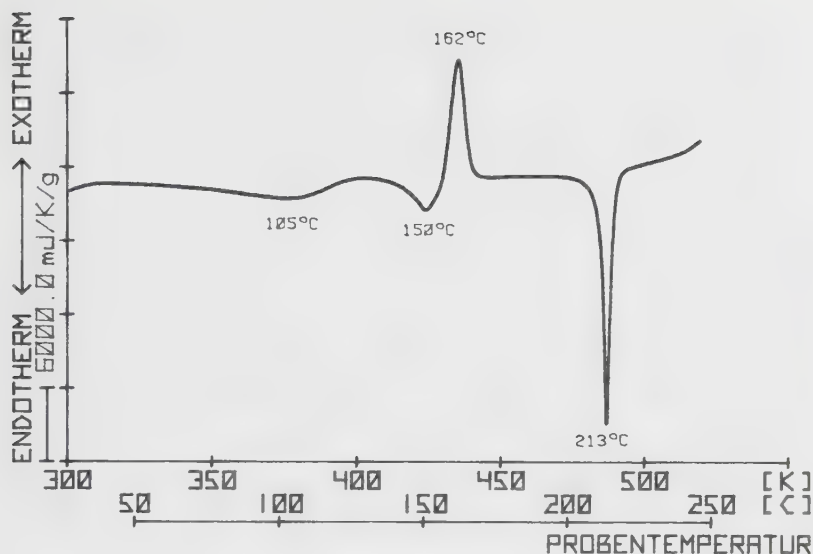


Abb. 34 DTA-Kurve von naßgemahlenem BA-H ($\text{BA:H}_2\text{O} = 1:10$)
nach normaler Trocknung

Trocknung in der DTA-Apparatur

Da nun während des Trocknungsprozesses durch Auskristallisation eventuell Modifikationsumwandlungen stattfinden können, sollte versucht werden, durch relativ rasche Trocknung eine mögliche Umwandlung zu verhindern. Eine Sprühtrocknung der Proben war in diesem Fall wegen des hohen Feststoffanteils der Suspensionen nicht möglich. Daher wurde der feuchte Rückstand direkt in den Proben Tiegel der DTA-Apparatur überführt. Die Trocknung wurde dann während der Analyse vollzogen. Dieser Vorgang gibt Anlaß zu einigen kritischen Überlegungen:

- 1) Eine genaue Einwaage kann in diesem Fall nicht durchgeführt werden, was eine quantitative Aussage der Analyseergebnisse unmöglich macht.

- 2) Während der Trocknung können Umwandlungen noch nicht ausgeschlossen werden.
- 3) Die Verdampfung der vergleichsweise sehr großen Wassermenge kann Umwandlungen im Bereich bis ca. 380 K (107 °C) überdecken und somit nicht erkennen lassen.

Da diese Thermoanalysen nicht zu quantitativen Betrachtungen herangezogen werden sollten, war eine exakte Einwaage nicht erforderlich; man mußte allerdings mit einer Temperaturverschiebung exo- oder endothermer Effekte rechnen. Sollten Umwandlungen im Bereich bis 380 K (107 °C) stattgefunden haben, so müßte sich bei einer Wiederholung der Analyse nach Entfernung des Wassers im ersten Abschnitt eine Veränderung nachweisen lassen. Bei höheren Temperaturen stattfindende Umwandlungen konnten durch zusätzliche Auslenkungen in der DTA-Kurve indiziert werden.

Der Kurvenverlauf einer so durchgeführten Analyse (Abb. 35) zeigte zunächst im Bereich bis ca. 390 K (117 °C) in einer massiven endothermen Auslenkung das Verdampfen des Wassers an. Da die Kurvenaufzeichnungen durch ein Rechnerprogramm so determiniert waren, daß alle Auslenkungen in graphischen Darstellungen nach den Extremwerten skaliert wurden, konnten kleinere endo- oder exotherme Auslenkungen leicht übersehen werden. Eine Vergrößerung des Kurvenausschnittes aus dem Bereich von 385 K (112 °C) bis zum Analysenende zeigte überraschenderweise nun einen ausgeprägten endothermen Peak bei 426 K (153 °C), also im Bereich der Modifikation II (Abb. 36). Ein weiterer Schmelzpeak bei 483 - 493 K (210 - 220 °C), also dem Schmelzbereich der Modifikation I α bzw. I β , wurde nicht beobachtet.

Somit gelang es, unter diesen spezifischen Bedingungen einer thermischen Behandlung der naßgemahlene Ausgangssubstanz H, die Existenz der reinen Modifikation II nachzuweisen. Dieser Befund wurde durch Wiederholungsversuche mehrfach bestätigt.

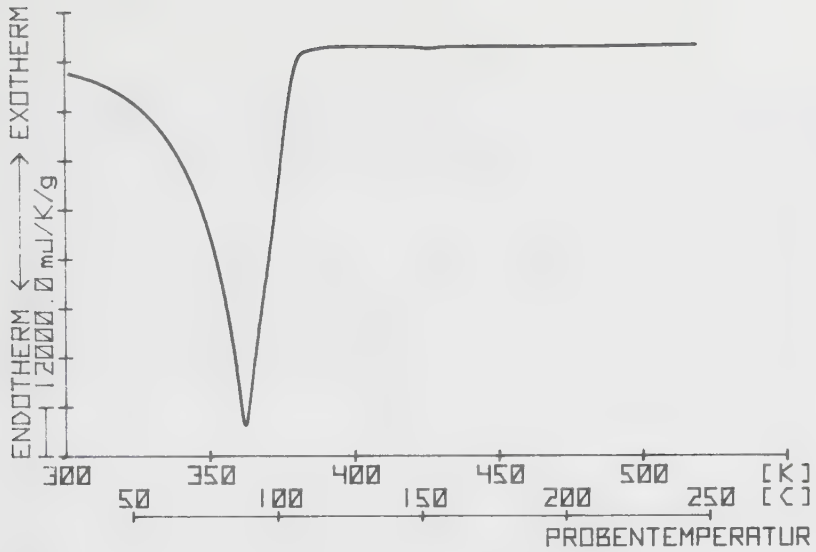


Abb. 35 DTA-Kurve des feuchten Filtrerrückstandes von naßgemahlenem BA-H

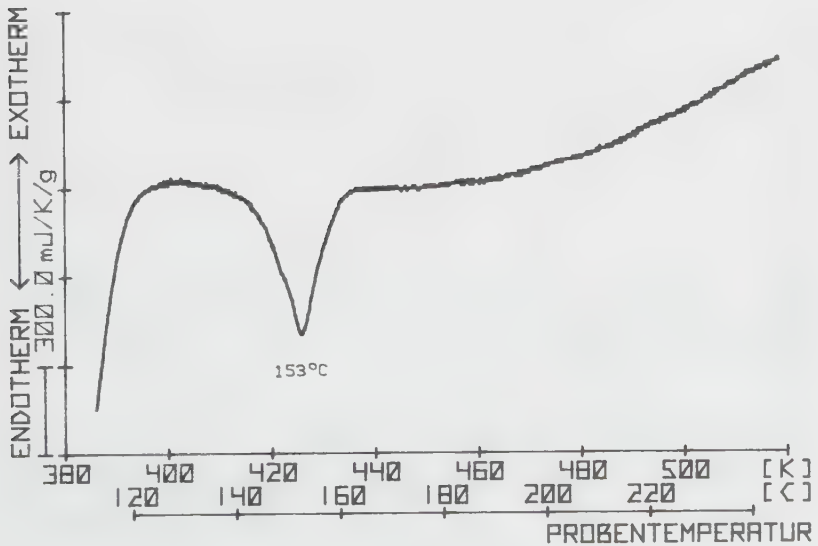
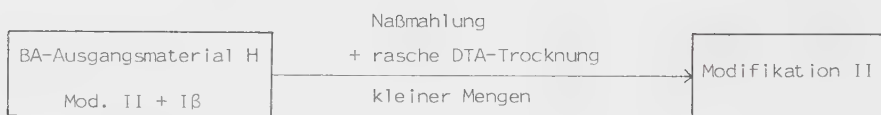


Abb. 36 DTA-Kurve des feuchten Filtrerrückstandes von naßgemahlenem BA-H



Beim Auftreten von Modifikation II wurde im thermoanalytischen Bild bisher immer eine endotherme Auslenkung zwischen ca. 340 K (67 °C) und 410 K (137 °C) beobachtet. Im Falle dieser Analysenmethode mußte das Signal von dem stark ausgeprägten H₂O-Peak überdeckt werden. Wurde nun bis auf 393 K (120 °C) aufgeheizt und wieder auf 293 K (20 °C) abgekühlt, so konnte beim zweiten Aufheizen wieder die schwächer ausgeprägte endotherme Auslenkung bei 373 K (100 °C) (H₂O) und der Peak im Bereich der Modifikation II (Abb. 37) nachgewiesen werden. Demnach findet auch unter diesen Bedingungen nach der zunächst erfolgten H₂O-Entfernung eine Wasseraufnahme statt (vgl. S. 55).

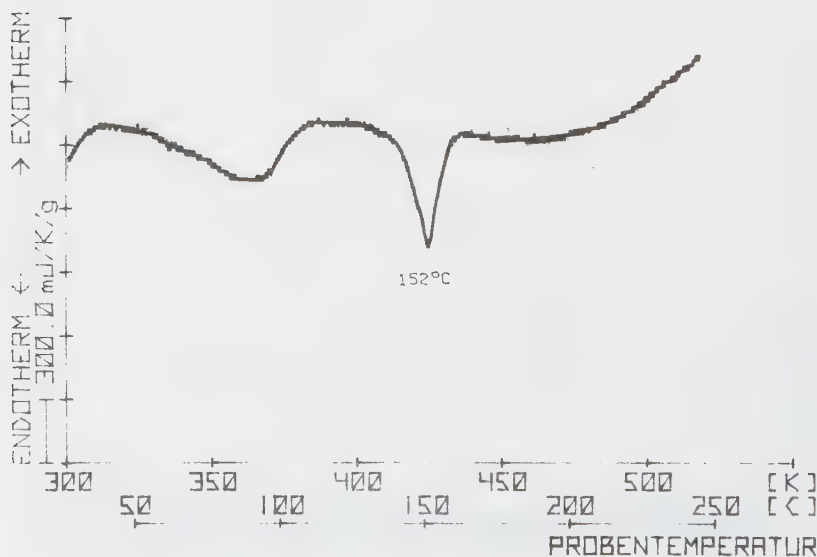


Abb. 37 DTA-Kurve des in der DTA-Apparatur getrockneten Filterrückstandes von naßgemahlenem BA-H
2. Aufheizen

Daß in diesem Fall keine Umwandlung zu Modifikation I α oder I β erfolgte, ließ vermuten, daß in der untersuchten Probe keine Kristallkeime einer dieser Modifikationen vorlagen. Daher wurde eine 10proz. wässrige Suspension von ungemahlenem BA-H, in der ja Kristallkeime der I β -Modifikation vorhanden sein mußten, dem gleichen Analysenverfahren unterzogen. Die DTA-Kurve zeigte nun in der Tat zusätzlich eine exotherme Umwandlung und den Schmelzpeak einer zweiten Modifikation an, wenngleich nicht zwischen I α - oder I β -Phase unterschieden werden konnte (Abb. 38).

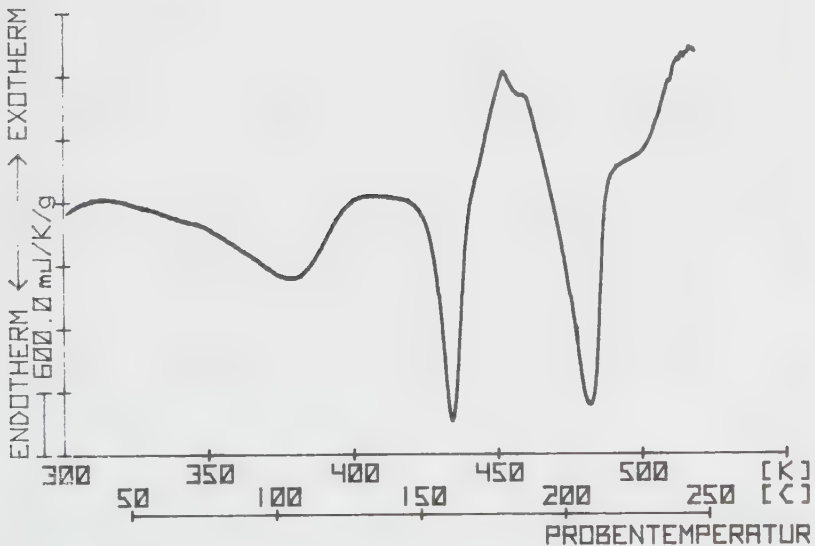


Abb. 38 DTA-Kurve des in der DTA-Apparatur getrockneten Filtrerrückstandes einer 10proz. BA-H-Suspension; 2. Aufheizen

Da durch die vorhergehenden Versuche eine Umwandlung von $I\alpha$ in $I\beta$ ausgeschlossen werden konnte, ist der Schluß gerechtfertigt, daß es sich hier um die $I\beta$ -Form handelt.

Überlegungen zur reinen Modifikation II

Somit gelang es, nur unter der Prämisse einer kleinen Substanzprobe und rascher Entfernung des Wassers im DTA-Tiegel, den Nachweis von Modifikation II ohne gleichzeitig anwesende $I\alpha$ - oder $I\beta$ -Form zu führen. Das Produkt gemäß Abbildung 37 wies auch nach einer Lagerung von 7 Tagen bei Raumtemperatur das gleiche thermische Verhalten auf^{**}.

Bei Erhöhung der Substanzeinwaage der naßgemahlenden Suspension unter Verwendung eines größeren Aluminiumtiegels^{***} verläuft die Wasserverdunstung naturgemäß langsamer, so daß die höher schmelzende Modifikation I gebildet werden kann. Abbildung 39 ergibt den bekannten, durch zwei endotherme und ein exothermes Signal gekennzeichneten Kurvenverlauf des Ausgangsmaterials H.

^{**} Es sei angemerkt, daß die Probe, nach Entfernung des Wassers bei 393 K (120 °C), 1 Woche im Tiegel aufbewahrt wurde.

^{***} Abmessungen: Innendurchmesser 14 mm, Höhe innen 14 mm.

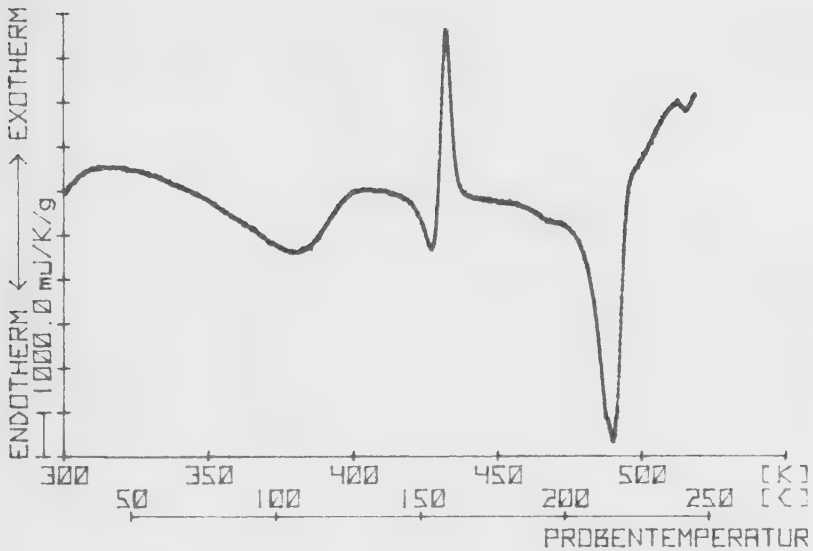


Abb. 39 DTA-Kurve einer größeren Probe von in der DTA-Apparatur getrocknetem Filtrerrückstand eines naßgemahlenen BA-H; 2. Aufheizen

Auf diese Weise konnte die vermutete reine Modifikation II also nicht in größeren Mengen isoliert werden, so daß eine weitere Charakterisierung mit anderen Analysenverfahren nicht möglich war.

Der einzige zusätzliche Hinweis auf den Schmelzprozeß von Modifikation II ohne Umwandlung in eine andere Kristallform war bei der Polarisationsheizmikroskopie von einzelnen, sich nicht berührenden Kristallen der Ausgangssubstanz H zu beobachten. In der gleichen Probe vollzog sich bei einigen Partikeln eine Umwandlung über eine teilweise Schmelze und wieder andere blieben bis zum Schmelzpunkt der zweiten Modifikation unverändert (s. Abb. 7 - 10, S. 27).

Die Analysenergebnisse der Naßmahlung deuteten ein weiteres Mal die überaus komplexen Vorgänge bei der Verarbeitung von BA-Handelssubstanz H an.

3.5.2.2. $I\alpha$ -, $I\beta$ - und amorphe Form

Es sollte nun untersucht werden, wie sich die reinen BA-Formen unter den Bedingungen der Naßmahlung verhielten. Die DTA-Kurven der naßgemahlenden $I\alpha$ -, der $I\beta$ - und der amorphen Form zeigten alle im Bereich bis ca. 383 K (110 °C) einen relativ scharfen endothermen Peak, der auf hydratartig gebundenes Wasser hinweisen könnte (Abb. 40,41). Der Nachweis für diese These wird in Kapitel 3.9. geführt.

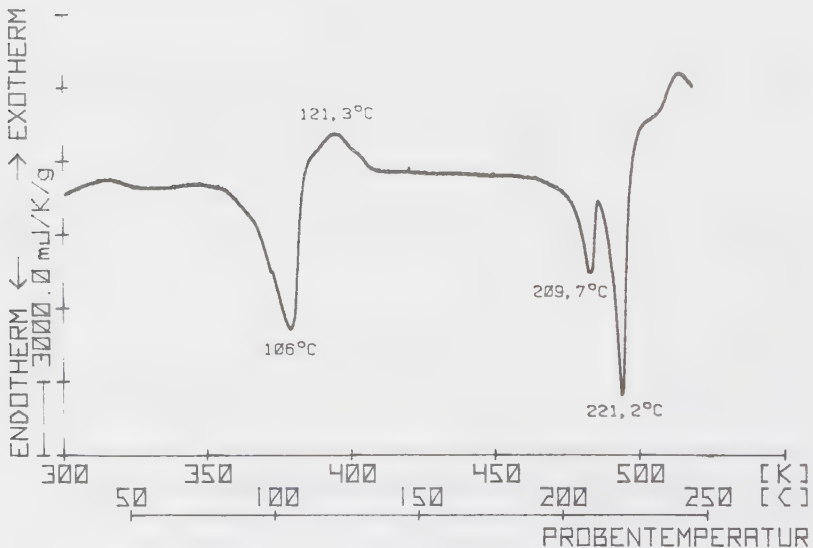


Abb. 40 DTA-Kurve von naßgemahlener $I\alpha$ -Modifikation
(normale Trocknung)

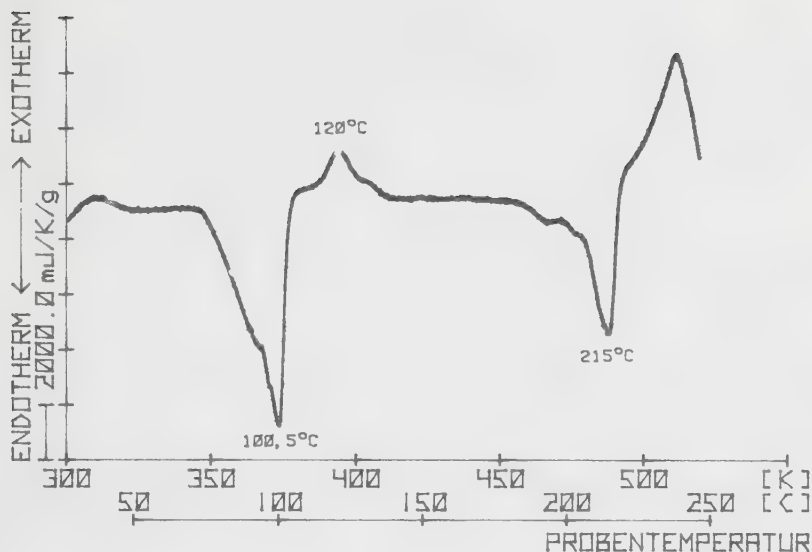


Abb. 41 DTA-Kurve von naßgemahlener I β -Modifikation
(normale Trocknung)

Das Auftreten von zwei endothermen Peaks bei ca. 483 K (210 °C) und ca. 494 K (221 °C) nach der Naßmahlung der I α -Modifikation zeigt an, daß eine Umwandlung in die I β -Form ebenso wenig wie bei der trockenen Bearbeitung verhindert werden kann. Die Naßmahlung der amorphen Form führt zu einem Produkt, das weitgehend identisch mit einem solchen ist, das auch bei der Naßmahlung der reinen I β -Form erhalten wird. Damit ist erwiesen, daß bei Zufuhr mechanischer Energie auch im wässrigen System die höchstschmelzende Modifikation entsteht und offensichtlich ein Hydrat ausbildet.

3.2.6. Diskussion zu den Kapiteln 3.4 und 3.5

Die Ergebnisse der angewandten Techniken zur Erzielung polymorpher Formen dieses Steroids kann man anhand einiger schematischer Darstellungen verdeutlichen (Schema 1 - 3).

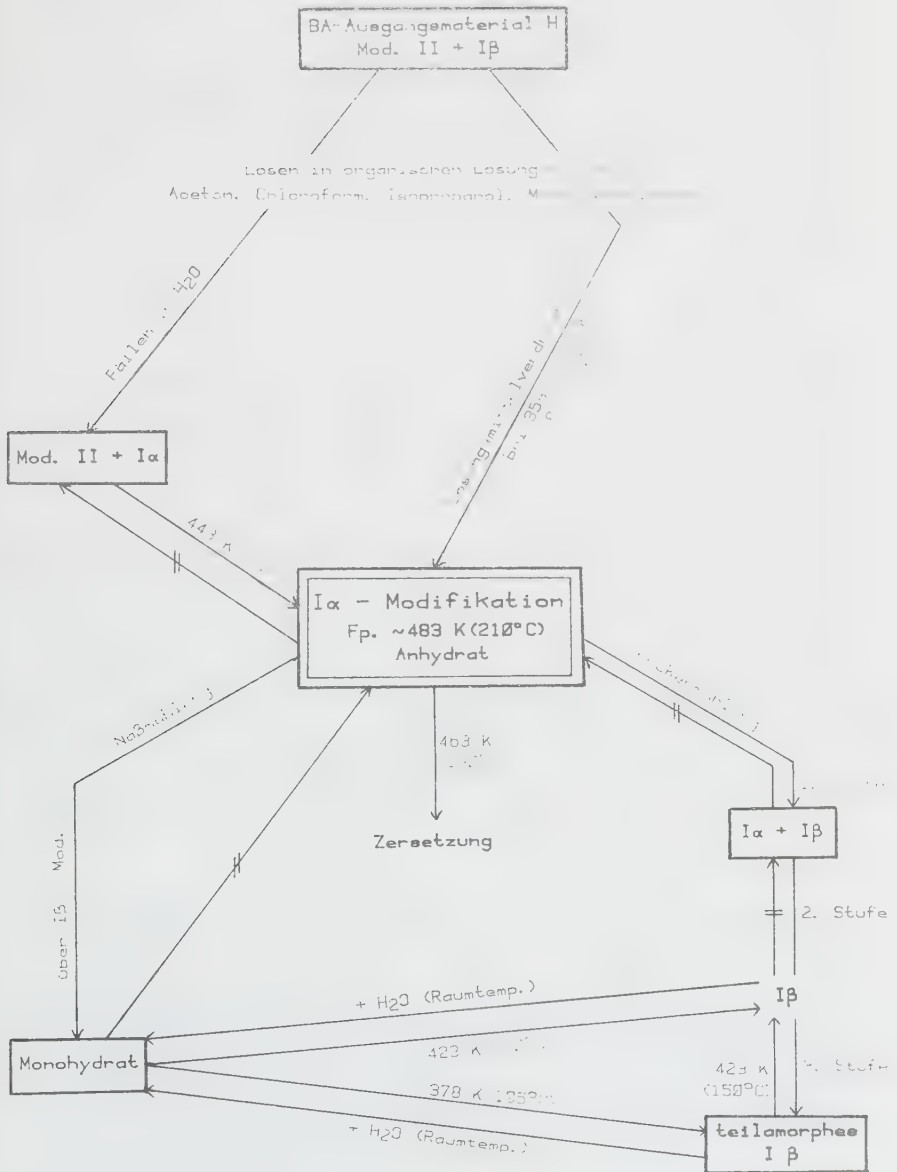
Gewinnung und Veränderung der reinen I α -Modifikation

Löst man Betamethasonacetat-Handelsprodukt H, das aus Modifikation II und I β besteht, in Isopropanol, Aceton, Chloroform oder Ethylmethylketon auf, so erhält man nach Abdunstung des Lösungsmittels bei 358 - 363 K (85 - 90 °C) Wasserbadtemperatur die reine I α -Modifikation in Form der wasserfreien Substanz. Werden andere Lösungsmittel, wie z.B. Ethanol, Cyclohexan, Acetonitril, eingesetzt, so resultieren Mischungen der I α -Modifikation mit anderen BA-Formen.

Löst man Betamethasonacetat in organischem Lösungsmittel und vereinigt die Lösung mit Wasser, so fällt ein Gemisch von Modifikation II und I α aus. Allerdings erhält man teilweise unter gleichen Versuchsbedingungen auch Mischungen, die bereits die I β -Form enthalten; auf diese Verhältnisse wird in Schema 3 hingewiesen. Beim Tempern dieses Gemisches aus Modifikation II und I α bei 443 K (170 °C) erhält man ebenfalls die reine I α -Modifikation in Form der wasserfreien Substanz.

Wird das reine I α -Produkt einer Naßmahlung in einer RETSCH-Mühle unterzogen, so resultiert das Monohydrat. Dieser Prozeß ist nicht reversibel. Wird die reine I α -Modifikation einer Trockenmahlung in der RETSCH-Mühle unterzogen, so bilden sich zeitabhängig steigende Anteile der I β -Modifikation. Neben diesem Umwandlungsprozeß findet aber auch eine Teilamorphisierung statt, so daß ein tribomechanisch behandeltes I α -BA zu Mischungen der I β -Form und amorpher Substanz führt.

Schema 1: Gewinnung und Veränderung der reinen
I α -Modifikation



Das im Zuge der Naßmahlung gewonnene Monohydrat kann bei 378 K (105 °C) in das analoge Gemisch I β - und amorphes BA überführt werden, welches seinerseits bei Zugabe von Wasser wieder das Monohydrat ergibt. Findet die thermische Behandlung des Monohydrates bei 423 K (150 °C) statt, so erhält man die reine I β -Form. Läßt man diese wiederum in Wasser bei Zimmertemperatur stehen, so erhält man das Monohydrat. Ein Tempern der I α -Form führt bereits nach wenigen Stunden zu einer durch Braunfärbung erkennbaren Zersetzung.

Gewinnung und Veränderung der reinen I β -Modifikation

Das aus Modifikation II und I β bestehende Ausgangsmaterial H geht bei 443 K (170 °C) in die reine I β -Modifikation in Form der wasserfreien Substanz über. Wird das Ausgangsmaterial in Chloroform/Methanol gelöst und dem Sprühtrocknungsprozeß unterzogen, so resultiert eine amorphe Substanz, die sich ebenfalls bei 443 K (170 °C) in die reine I β -Modifikation umwandelt.

Wird das BA-Handelsprodukt H trocken gemahlen, so erhält man ein Gemisch von I β und amorphem Steroid. Dieses teilamorphe Produkt kann bei 443 K (170 °C) gleichfalls in die reine wasserfreie I β -Modifikation überführt werden. Umgekehrt kann bei Trockenmahlung der I β -Modifikation ebenfalls ein teilamorphes Gemisch resultieren. Auch bei der Trockenmahlung des amorphen Materials entsteht ein Teil der I β -Form.

Wird reines I β -BA einer Naßmahlung unterzogen, dann entsteht ebenso das Monohydrat wie bei der Behandlung des teilamorphen Betamethasonacetats mit Wasser. Der reversible Prozeß, nämlich die Überführung des Monohydrates in die reine I β -Form, gelingt durch Tempern bei 423 K (150 °C). Das teilamorphe Produkt wird bereits bei 378 K (105 °C) in der wasserfreien Form aus dem Monohydrat erhalten.

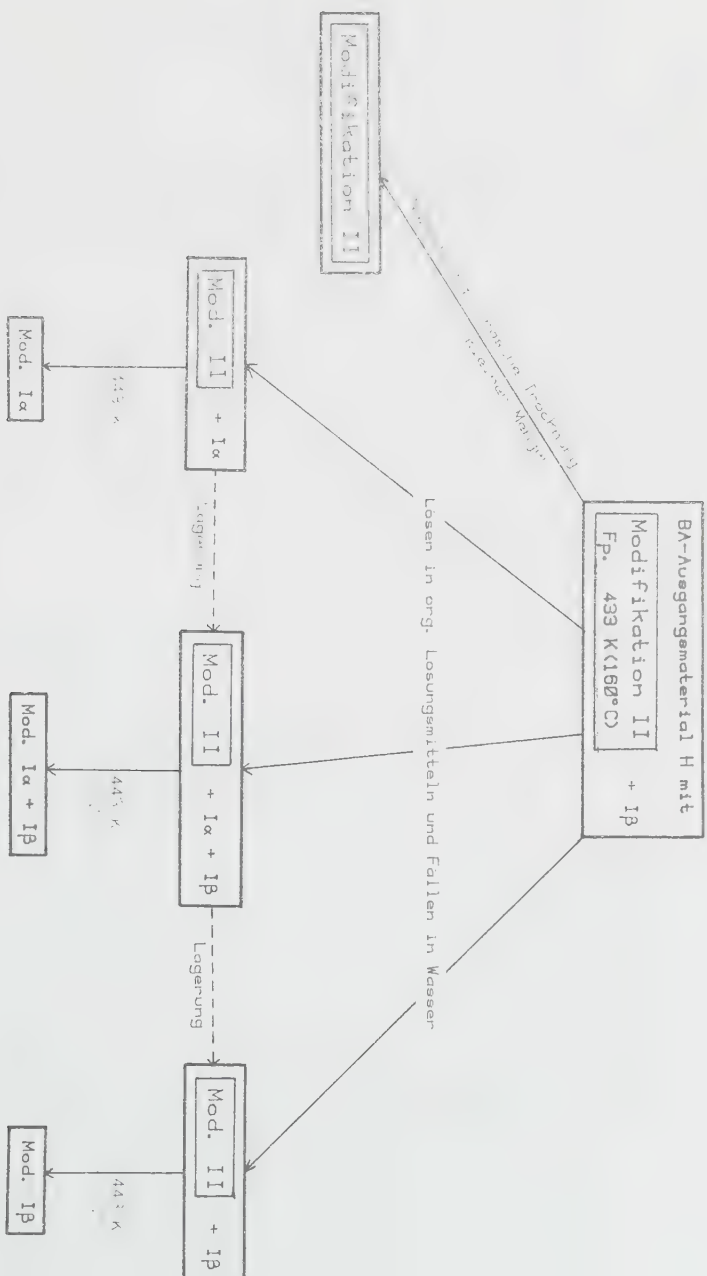
Unterwirft man die $I\alpha$ -Modifikation der Trockenmahlung, so findet nicht primär die Umwandlung in ein teilamorphes Produkt der $I\alpha$ -Form, sondern die Umwandlung in die $I\beta$ -Form statt (vgl. Schema 1). Bei Erhitzen der reinen $I\beta$ -Form auf 463 K (190 °C) findet im Gegensatz zur reinen $I\alpha$ -Form keine visuell erkennbare Zersetzung – auch nach mehrstündigem Tempern – statt.

Auftreten und Veränderung von Modifikation II

Aus der schematischen Darstellung kann man entnehmen, daß bei der Naßmahlung des die Modifikation II enthaltenden Ausgangsmaterials – unter der Prämisse einer raschen Trocknung in einem kleinen DTA-Tiegel – die reine Modifikation II nachweisbar ist. Nur unter diesen Bedingungen gelang die Identifizierung dieser bei ca. 430 K (157 °C) schmelzenden BA-Form. Werden die Versuchsbedingungen im Sinne einer langsameren Wasserabdestillation oder bei größeren Ansätzen variiert, so entstehen stets Gemische mit den höher schmelzenden Modifikationen $I\alpha$ oder $I\beta$.

Diese Gemische werden auch erhalten, wenn man gemäß Schema 1 und 3 organische Lösungen des Steroids mit Wasser vereinigt. Dabei können sowohl nebeneinander die Formen II und $I\alpha$, II, $I\alpha$ und $I\beta$ sowie II und $I\beta$ anfallen. Eine Steuerung des Ausfällungsprozesses im Sinne der Gewinnung nur eines Gemisches ist praktisch nicht möglich. Tempert man bei 463 K (170 °C) ein Gemisch von Modifikation II und $I\alpha$, findet eine quantitative Überführung in die $I\alpha$ -Form statt; Modifikation II ist nicht mehr nachweisbar. Wird bei 463 K (170 °C) ein Gemisch von Modifikation II mit $I\alpha$ und $I\beta$ behandelt, so verschwindet ebenfalls der endotherme Modifikation II-Peak und man erhält ein Gemisch von $I\alpha$ und $I\beta$. Es ist daher nicht verwunderlich, wenn ein Gemisch von Modifikation II und $I\beta$ bei 463 K (170 °C) die reine $I\beta$ -Form ergibt.

Schema 3: Auftreten und Veränderung von Modifikation II



3.7. Stabilität der BA-Modifikationen

3.7.1. Lagerung der BA-Substanzen

Betamethasonacetat-Ausgangssubstanz H ist, wie entsprechende Untersuchungen ergaben, bei trockener Lagerung, vor Licht geschützt, bei Raumtemperatur über Jahre hinweg physikalisch stabil (s. 3.1).

Es mußte nun auch die Stabilität der neu gewonnenen Formen überprüft werden. Hierzu wurden Substanzproben in dicht verschlossenen braunen Glasgefäßen bei Raumtemperatur gelagert. Nach unterschiedlichen Zeiten wurde ihr physikalischer Zustand mittels DTA überprüft.

3.7.1.1. Ausfällungsprodukte

Die Ausfällungsprodukte von BA sind bezüglich ihrer Stabilität in zwei Gruppen einzuteilen:

- 1) Ausfällungen, die von vorneherein neben Modifikation II noch Modifikation I β im DTA-Bild anzeigten, waren über den gesamten Beobachtungszeitraum von 2,5 Jahren stabil.
- 2) Ausfällungen, die neben der Form II noch die I α -Form enthielten, blieben bezüglich dieser Modifikation nicht stabil. Sie zeigten fast alle am Ende des Beobachtungszeitraumes nach 2,5 Jahren anstelle der I α - nur noch die I β -Komponente.
Dabei waren Modifikation I α enthaltende Zwischenstufen, wie im Fall einer 7 Tage gelagerten BA-Fällung aus Aceton in H₂O, praktisch kaum faßbar (Abb. 42).

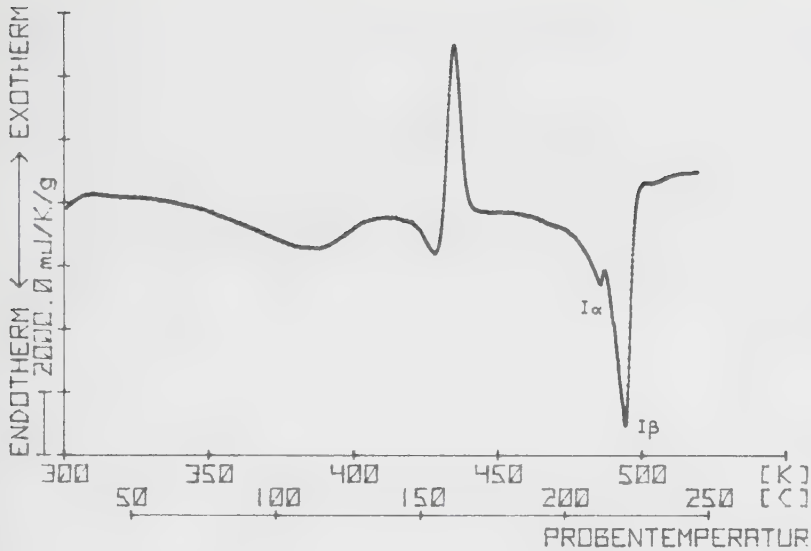


Abb. 42 DTA-Kurve einer BA-Aceton/Wasser-Ausfällung
1 Woche alt

Aus diesem Befund geht hervor, daß Ausfällungen, die von vorne-
herein mit der Iβ-Modifikation anfallen, die stabilste Fällungs-
form darstellen. Die im Verlauf der Lagerung beobachtete Um-
wandlung der Iα- in die Iβ-Modifikation war bereits früher durch
tribomechanische Behandlung - und damit wesentlich rascher -
gelingen. Thermotrop war es ja zu Zersetzungsreaktionen gekom-
men.

3.7.1.2. $I\alpha$ - und $I\beta$ -Modifikation

Die Stabilität der $I\alpha$ -Modifikation - ohne Form II - war aufgrund der eben festgestellten Ergebnisse von besonderem Interesse. Muster mit der reinen $I\alpha$ -Form - ohne Form II und $I\beta$ - zeigten nach ca. einem Jahr keine Veränderungen. Hingegen bewirkte eine geringe "Verunreinigung" mit der $I\beta$ -Phase eine langsame Umlagerung in diese Kristallform, wie man an 2,5 Jahre gelagerten Kristallen aus Acetonitril deutlich erkennen kann (Abb. 43).

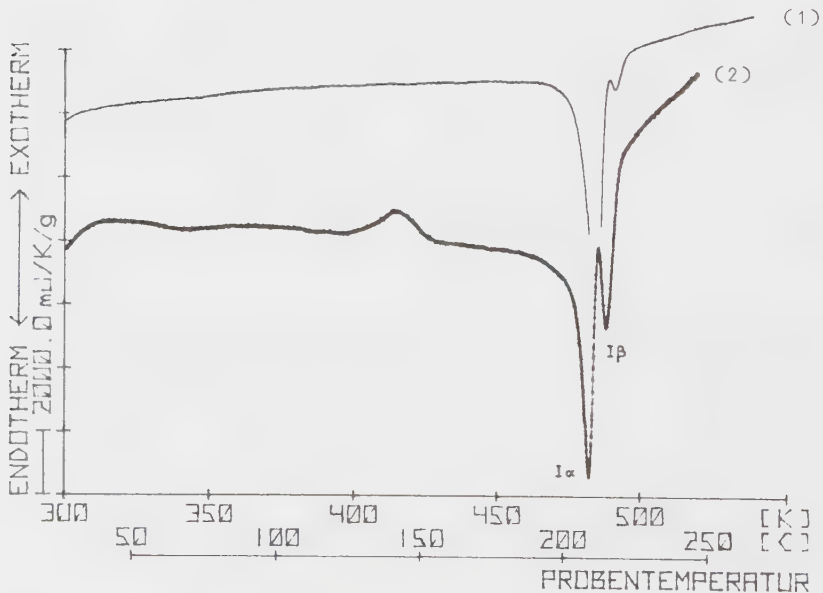


Abb. 43 DTA-Kurven von BA-Kristallen aus Acetonitril

1) nach Herstellung

2) nach 2,5 Jahren

Zur Umlagerung sind also in diesem Fall im Gegensatz zur tribo-tropen Umwandlung Kristallkeime der I β -Modifikation unbedingt erforderlich.

Betrachtet man nun die Stabilität der reinen I β -Modifikation, so zeigten sich erwartungsgemäß ähnlich stabile Verhältnisse wie bei der Ausgangssubstanz H selbst. So konnte nach 1,5 Jahren keine Veränderung der I β -Form festgestellt werden.

3.7.1.3. Amorphes BA

Schließlich sollte noch die Stabilität der amorphen Sprühtrocknungsprodukte untersucht werden. Für ein amorphes Sprühtrocknungsprodukt des strukturverwandten Fluprednylenacetats berichtete z.B. KOHL (48) von einer starken Rekrystallisations-tendenz schon innerhalb eines Tages, während DÖLLE bei Digo-xin eine jahrelange Stabilität des amorphen Sprühtrocknungspro-duktes nachweisen konnte (5). Man kann als Grund für die besse-re Stabilität des Digoxins die Anwesenheit der glykosidisch ge-bundenen Zuckerreste diskutieren. Darauf deuten neuere Untersu-chungsergebnisse von H.U. HELLER (121) hin.

Für amorphes BA konnte nun überraschenderweise festgestellt werden, daß das Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch, aus dem gesprüht wurde, einen deutlichen Einfluß auf die Bestän-digkeit der amorphen Hohlkugeln hatte. Das aus Chloroform und Methanol (7+3) gesprühte amorphe BA blieb, wie aus Abbildung 44 hervorgeht, über einen Zeitraum von fast drei Jahren nahe-zu unverändert. Die schwache endotherme Auslenkung bei ca. 385 K (112 °C) könnte auf eine geringfügige Wasseraufnahme hin-weisen.

Bei dem Sprühtrocknungsprodukt aus reinem Chloroform war dage-gen bereits nach einem Tag eine deutliche Abnahme des exother-men Peaks bei 402 K (129 °C) zu erkennen (Abb. 45).

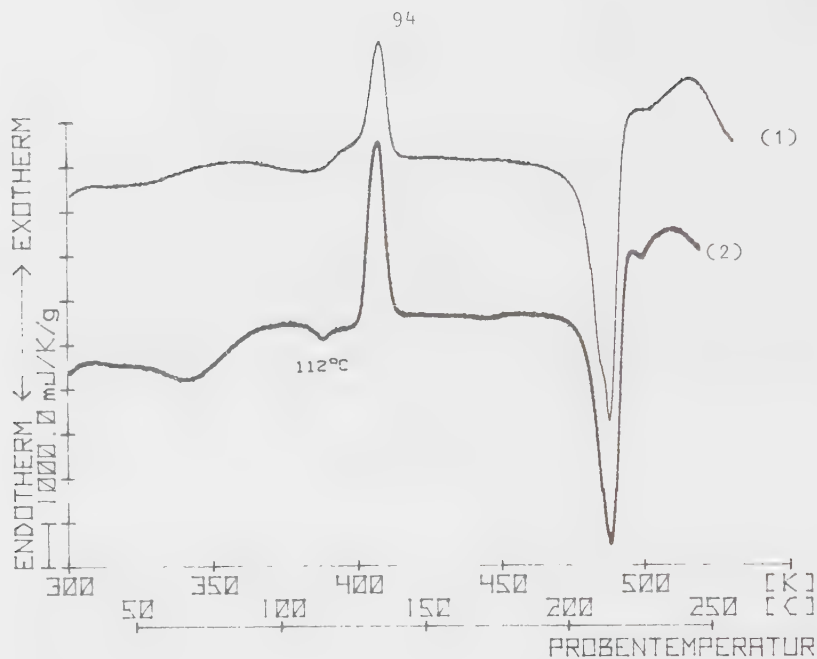


Abb. 44 DTA-Kurven von sprühgetrocknetem BA aus $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (7+3) 1) nach Herstellung 2) nach 32 Monaten

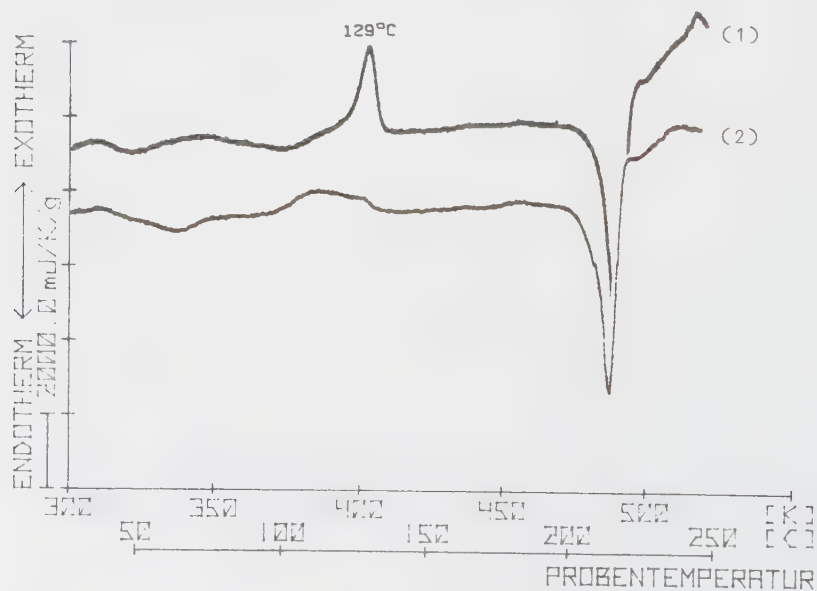


Abb. 45 DTA-Kurven von sprühgetrocknetem BA aus CHCl_3 1) nach Herstellung 2) nach 1 Tag

Diese Unterschiede werden bei rasterelektronenmikroskopischen und röntgendiffraktometrischen Untersuchungen noch wesentlich deutlicher. Es sei daher hier schon auf die Betrachtung bei diesen Analysenmethoden verwiesen (s. S. 119 und S. 111). Nach allen bisher gewonnenen Erkenntnissen kann das unterschiedliche Verhalten darauf zurückgeführt werden, daß bei der Sprühtrocknung mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ im Minispray-Dryer unter den gewählten Versuchsbedingungen ein reines, d.h. impfkristallfreies Produkt anfällt. Bei der Sprühtrocknung aus Chloroformlösung werden dagegen – analytisch nicht nachweisbar – geringste Mengen der I β -Form als Kristallkeime entstehen, die, wie im vergangenen Kapitel dargelegt, die Voraussetzung für eine Kristallisation darstellen.

3.7.1.4. Zusammenfassung

Als Ergebnisse der Lagerungsversuche unter Normalbedingungen kann man bezüglich der Stabilität der einzelnen Modifikationen zusammenfassen (s.a. Tab. 3, S.100, obere Hälfte):

- 1) Die reinen Modifikationen I α , I β sowie das Modifikationsgemisch II + I β verändern sich bei Lagerung der trockenen Substanzen nicht.
- 2) Ist neben der I α -Phase eine zusätzliche andere Modifikation (II und/oder I β) anwesend, so findet eine Umwandlung der I α - in die I β -Phase statt.
- 3) Die Stabilität eines thermodynamisch metastabilen amorphen Zustandes bei Sprühtrocknungsprodukten kann nur mit dem Sprühlösungsmittelgemisch Chloroform/-Methanol (7+3) in der Laborapparatur, nicht aber mit reinem Chloroform erreicht werden.
- 4) Wird Chloroform als Lösungsmittel bei der Sprühtrocknung eingesetzt, so wandelt sich das zunächst amorphe Produkt in die stabile I β -Form um.

Im Hinblick auf den Einsatz von BA in Kristallsuspensionen mußte nun die Stabilität der verschiedenen BA-Produkte im wässrigen Milieu untersucht werden.

3.7.2. Lagerung wässriger BA-Suspensionen

Hierzu wurden vor allem von den im trockenen Zustand stabilen Produkten 1proz. wässrige Suspensionen hergestellt, wobei zur Vermeidung von Artefaktbildungen auf eine Zerkleinerung der eingesetzten Partikeln verzichtet wurde. Die Lagerung erfolgte in braunen dicht verschlossenen Gefäßen bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 30 Tagen. Dann wurden die Suspensionen filtriert und der Filterrückstand im Vakuumexsikkator bei Raumtemperatur getrocknet.

3.7.2.1. Ausgangssubstanz H und reine Modifikationen

Die DTA-Kurven von Suspensionsproben der Ausgangssubstanz H und der reinen I α -Modifikation wiesen keine Veränderungen gegenüber denen der eingesetzten trockenen Proben auf. Auffällig ist dabei die Beobachtung, daß bei der reinen I α -Form überhaupt kein Wasser nachgewiesen wurde und bei der Ausgangssubstanz H keine Verstärkung des H₂O-Peaks zu beobachten war. Dagegen zeigte sich im Kurvenverlauf des Rückstandes der I β -Modifikation ein deutlicher Unterschied gegenüber der reinen Form (Abb. 46).

Es ist deutlich ein massiver endothermer H₂O-Peak zwischen ca. 340 K (67 °C) und 380 K (107 °C) mit einer maximalen Auslenkung bei 376 K (103 °C) zu erkennen. Darauf folgt ein exothermes Signal bei 398 K (125 °C). Bei 492 K (219 °C), also im Schmelzbereich der I β -Form, liegt schließlich der zweite endotherme Peak.

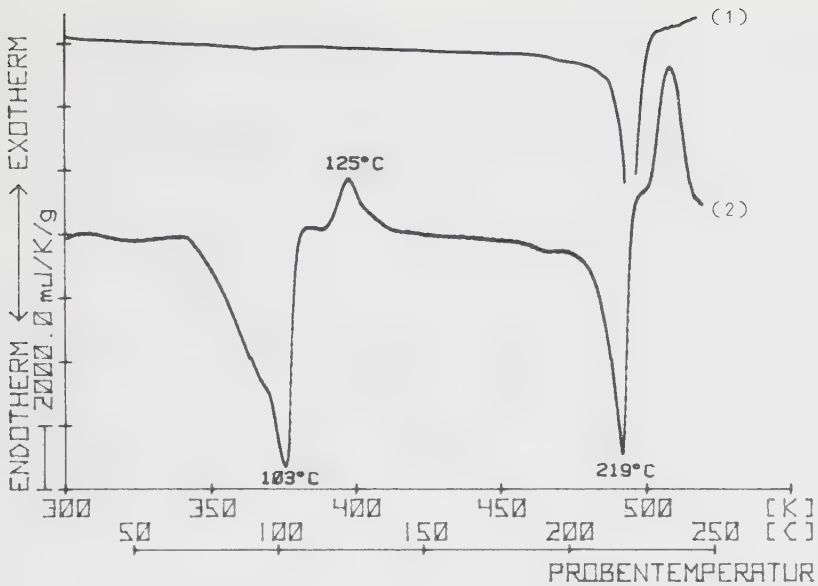


Abb. 46 DTA-Kurven von IB-Modifikation

1) nach Herstellung

2) nach 30-tägiger Lagerung in H_2O

Es entstand bei diesem Suspensionsrückstand offensichtlich ein Hydrat, wie es schon bei der Naßmahlung beobachtet wurde (s. 3.5.2). Eine nähere Interpretation soll daher bei der Diskussion über ein BA-Hydrat (s. 3.9) erfolgen.

3.7.2.2. Modifikationsgemische mit $I\alpha$ -Form

Von grundsätzlichem Interesse war auch die Frage der Stabilität solcher Modifikationsgemische, die die $I\alpha$ -Form enthielten, da bei trockener Lagerung oder Mahlung die Umwandlung von $I\alpha$ nach $I\beta$ stattgefunden hatte. Tatsächlich trat nun im Suspensionsrückstand immer Modifikation $I\beta$ in der DTA-Kurve auf.

Das Kurvenbild der Gemische aus Modifikation II und $I\alpha$ glich nach Lagerung in wässrigem Milieu dem der Ausgangssubstanz H . Es hatte demnach eine Umwandlung in die $I\beta$ -Form stattgefunden. Die DTA-Kurve eines suspendierten Kristallisates aus Acetonitril war dagegen mit dem Kurvenverlauf der gelagerten $I\beta$ -Suspension zu vergleichen (s. Abb. 46). In diesem Fall ließ sich nach 1/2 Monat auch gut ein Zwischenzustand erfassen (Abb. 47).

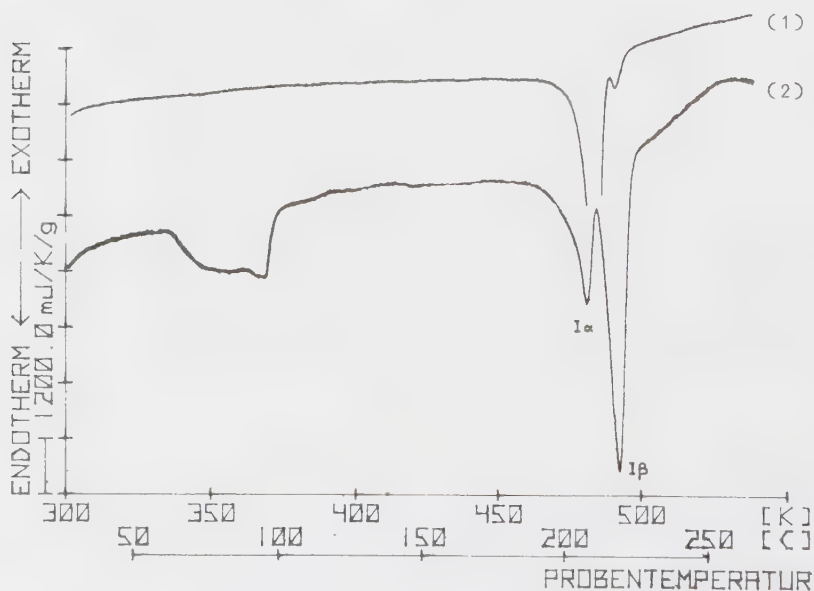


Abb. 47 DTA-Kurven von BA-Kristallen aus Acetonitril

- 1) nach Herstellung
- 2) nach 15-tägiger Lagerung in H_2O

Diese Versuche lassen auf eine lyotrope Umwandlung der $I\alpha$ - in die thermodynamisch begünstigte $I\beta$ -Modifikation schließen. Wie aus den Lagerungsversuchen der reinen $I\alpha$ -Form jedoch hervorgeht, ist für diesen Vorgang das initiale Vorhandensein einer zusätzlichen BA-Kristallform zwingend erforderlich.

3.7.2.3. Amorphes BA

Auch die Lagerung von suspendierter sprühgetrockneter Substanz hatte – in diesem Falle unabhängig vom Lösungsmittel der Sprühflüssigkeit – die Ausbildung eines Hydrates ähnlich wie die Lagerung von $I\beta$ -Modifikation zur Folge.

3.7.2.4. Zusammenfassung

Wenn man die bisher gewonnenen Ergebnisse zusammenfaßt (s. Tabelle 3, untere Hälfte), so kann man folgende Feststellungen treffen:

1. Das handelsübliche Ausgangsmaterial erfährt bei der Lagerung im wässrigen Milieu keine Veränderung.
2. Die reine $I\alpha$ -Modifikation bleibt ebenfalls unverändert erhalten.
3. Die reine $I\beta$ -Modifikation wird in ein Hydrat umgewandelt.
4. Alle Produkte mit amorphem BA erfahren mehr oder weniger starke Umwandlungen in das Hydrat der $I\beta$ -Form.

Tab. 3 Veränderung von BA-Formen während der Lagerung

	Ausgangsprodukt	Veränderung	Endprodukt
trockene Substanzen	Handelssubstanz H Mod. II + I β Modifikation I α Modifikation I β amorphes BA: aus: CHCl ₃ /CH ₃ OH aus: CHCl ₃ Fällungsprodukte: Mod. II + I α Mod. II + I α + I β Mod. II + I β Mod. I α + I β	unverändert unverändert unverändert unverändert amorph $\rightarrow$ I β I α $\rightarrow$ I β I α $\rightarrow$ I β unverändert I α $\rightarrow$ I β	Mod. II + I β Modifikation I α Modifikation I β amorphes BA Modifikation I β Mod. II + I β Mod. II + I β Mod. II + I β Mod. I α + I β (jedoch mehr I β)
wässrige Suspensionen	Handelssubstanz H Mod. II + I β Modifikation I α Modifikation I β amorphes BA Fällungsprodukte: Mod. II + I α Mod. II + I α + I β Mod. II + I β Mod. I α + I β	unverändert unverändert I β $\rightarrow$ Hydrat amorph $\rightarrow$ Hydrat I α $\rightarrow$ I β I α $\rightarrow$ I β unverändert I α $\rightarrow$ I β $\rightarrow$ Hydrat	Mod. II + I β Modifikation I α Hydrat Hydrat Mod. II + I β Mod. II + I β Mod. II + I β Hydrat + Spuren I α **

** Auf die Phänomene der Hydratbildung wird in Kapitel 3.9 näher eingegangen.

Für die Praxis ergeben sich hieraus folgende Aspekte:

Der Einsatz des Ausgangsmaterials H ist stets an die Existenz mehrerer Modifikationen gebunden. Wenngleich auch eine Suspension der reinen I α -Modifikation keine physikalischen Umwandlungen zeigte, so muß bei einer praxisgerechten Zerkleinerung nach den vorher durchgeführten Untersuchungsergebnissen mit der Bildung von Kristallkeimen der I β -Modifikation gerechnet werden. Daraus ergibt sich dann zwangsläufig ebenfalls eine physikalische Instabilität der Suspension. Wird die I β -Form, die sich zum Hydrat umwandelt, verarbeitet, so wäre diese Form, unter der Prämisse eines nichtstattfindenden Kristallwachstums, gut geeignet, da sie eine definierte und stabile Form darstellt. Entsprechende Untersuchungen müssen daher das Ziel verfolgen, die Zerkleinerung eines BA-I β -Hydrates ohne sekundär verlaufende Veränderungen vorzunehmen. Diese Untersuchungen sollten indessen jedoch nur mit Suspensionen, die praxisgerecht andere Hilfsstoffe, insbesondere Kristallisationsinhibierende Kolloide, enthalten, durchgeführt werden. Der Einsatz von Ausgangsprodukten mit amorphen Anteilen ist im Hinblick auf die stets stattfindenden Umwandlungen potentiell problematisch.

Vor einer Besprechung der Möglichkeiten zur Gewinnung stabiler Hydrate der I β -Modifikation soll noch auf begleitende physikalische Untersuchungen zur Sicherung der bisher gewonnenen Erkenntnisse eingegangen werden.

3.8. Weitere physikalische Untersuchungen

Um die bei den verschiedenen verfahrenstechnischen Operationen auftretenden Umwandlungen oder neuen Modifikationen zu kennzeichnen, war außer der Differentialthermoanalyse eine weitere Bestätigung bzw. Ergänzung durch weitere Analysenverfahren erforderlich.

Am wichtigsten war dabei jeweils die Klärung der Frage, ob in bestimmten Fällen die I α - oder die I β -Modifikation vorliegt. Da bekannt ist, daß Verunreinigungen zum Teil beträchtliche Schmelzpunktdepressionen einer Substanz auslösen können und auch das Vorhandensein geringer Mengen einer anderen Modifikation bei polymorphen Verbindungen als "Verunreinigung" zu einem solchen Effekt führen kann (32), mußte bei anderen Untersuchungsmethoden vor allem auf die Unterscheidung dieser Formen geachtet werden.

3.8.1. Röntgenbeugungsuntersuchungen

Röntgenbeugungsanalysen erscheinen auf den ersten Blick für die Kennzeichnung einzelner Modifikationen polymorpher Substanzen am geeignetsten, da - zumindest an Einkristallen - Netzebenenabstände durch die Intensität einzelner Beugungsreflexe genau bestimmt werden können. Dabei macht man sich die Erkenntnis von BRAGG zunutze, daß Kristalle aus Ebenen aufgebaut sind, die mehr oder weniger dicht mit Atomen oder Molekülen besetzt sind und stets von gleichwertigen parallelen Ebenen in einem konstanten Abstand d (Netzebenenabstand) begleitet werden. Treffen Röntgenstrahlen einer konstanten Wellenlänge λ unter einem bestimmten Winkel θ auf die parallelen Netzebenen, so können nach den BRAGG'schen Reflexionsbedingungen:

$$n\lambda = 2 d \sin \theta$$

diese Abstände d bestimmt werden; Verstärkung der reflektierten Strahlung - und damit ein mehr oder weniger ausgeprägter Beugungsreflex - tritt dabei nur auf, wenn die Wegdifferenz Δ zwischen den an verschiedenen Netzebenen gebeugten Strahlen

$$\Delta = 2 d \sin \theta$$

ein ganzzahliges Vielfaches n der Wellenlänge λ beträgt. Der Aufbau eines Kristallgitters ist somit durch die Beugungswinkel θ bestimmt. In einer vollständigen Kristallstrukturanalyse kann an geeigneten Beispielen die genaue Anordnung der Atome oder Moleküle in der Elementarzelle bestimmt werden (30). Bei polymorphen organischen Substanzen ist es aufgrund der im Rahmen der pharmazeutisch-technologisch notwendigen Operationen - z.B. Mahlung - in der Regel nicht möglich, eine Kristallstrukturaufklärung an Einzelkristallen durchzuführen (3). Daher dient die Röntgendiffraktometrie - wie auch bei den hier zu beantwortenden Fragen - meist nur zur Identifizierung einzelner Kristallformen, ohne die Strukturdaten genau zu erfassen. Das Joint Committee on Powder Diffraction Standards hat dazu z.B. über 21000 Spektren gespeichert, mit denen auch die USP XX (78) Röntgenbeugungsspektren vergleichen läßt.

In der Pharmazie ist es üblich, röntgendiffraktometrische Untersuchungen nach dem Pulververfahren durchzuführen, was meistens die unmittelbare Betrachtung der in den Darreichungsformen zum Einsatz kommenden Substanz ermöglicht.

Ziel der im folgenden beschriebenen Versuche war also nicht die kristallographische Strukturanalyse von BA bzw. bestimmter Kristallformen, sondern die Kennzeichnung von Zustandsformen, die im Laufe galenischer Verarbeitungsprozesse auftraten, vorzunehmen. Dabei interessierte u.a. bei teilamorphen Produkten die Bestimmung des Kristallisationsgrades und die röntgendiffraktometrisch nachweisbaren Veränderungen bei differentialthermoanalytisch erkannten Umwandlungen.

Das für die Untersuchung eingesetzte Röntgendiffraktometer der Fa. Philips war mit einer Zusatzeinrichtung versehen, die ein Aufheizen der Substanzen im Probenträger erlaubte.

Da bei manchen Versuchen nur sehr geringe Substanzmengen anfielen, wurde beim Originalprobenträger durch einen selbstgefertigten Einsatz der Probenaufnahmeraum von 129 mm^3 auf 58 mm^3 reduziert (s. Anhang). Bei Kontrollanalysen mit diesem Einsatz ergab sich weder qualitativ noch im Verhältnis der Peakintensitäten zueinander ein Unterschied zu den Aufnahmen im Originalprobenträger. Lediglich die Peakhöhen waren niedriger.

3.8.1.1. Ausgangsmaterial H

Als erste Probe wurde zunächst das handelsübliche BA ohne mechanische Vorbehandlung untersucht. Die reproduzierbar erhaltenen Diffraktogramme lassen ein vollkommen kristallines Produkt mit einem charakteristischen Hauptreflex bei $2\theta = 16,8^\circ$ erkennen (Abb. 48).

Zur Charakterisierung einer möglicherweise bestehenden Korrelation zwischen DTA-Signalen und Röntgenreflexen bei steigenden Temperaturen wurden die Proben bis ca. 483 K (210°C) aufgeheizt. Es erwies sich als zweckmäßig, nicht nur den Hauptreflex bei $2\theta = 16,8^\circ$ während eines kontinuierlichen Aufheizens zu verfolgen, sondern diskontinuierlich bei definierten Temperaturen einen Ausschnitt zwischen $2\theta = 12^\circ$ und $2\theta = 17^\circ$ zu erfassen. Die gewählten Temperaturen lagen bei 323 K (50°C), 373 K (100°C), 393 K (120°C), 403 K (130°C), 413 K (140°C), 423 K (150°C), 433 K (160°C), 443 K (170°C), 463 K (190°C), 483 K (210°C).

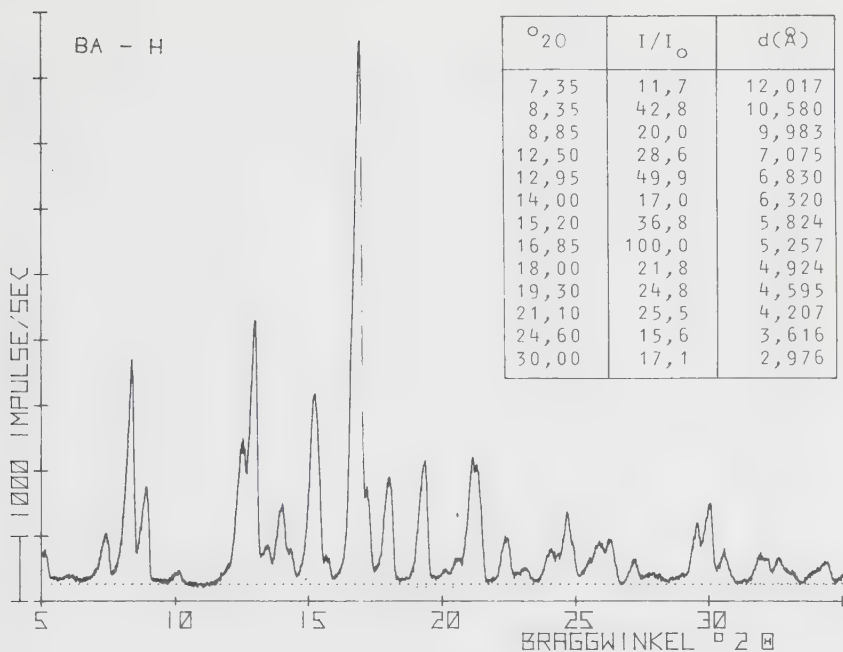


Abb. 48 Röntgendiffraktogramm (RD) von BA-H

Wie aus der graphischen Darstellung (Abb. 49) hervorgeht, fällt zunächst eine Peakhöhenveränderung bei allen Beugungsreflexen zu größeren Intensitätswerten – bis zu einer Temperatur von 393 K (120 °C) – auf. Es sei daran erinnert, daß in diesem Temperaturbereich in der DTA eine Abgabe von Lösungsmitteln festgestellt wurde, die jedoch keine röntgendiffraktometrisch nachweisbare Veränderung zur Folge hatte. Diese Tatsache spricht gegen einen hydratartigen Einbau von H_2O in das BA-Kristallgitter der Ausgangssubstanz H.

Wie später durchgeführte Untersuchungen mit definiertem Hydrat ergeben haben (s. S.135), findet durch den Austritt des Wassers aus einem Hydrat eine deutliche Veränderung im Bereich dieses Ausschnitts zwischen $2\theta = 12^\circ$ und $2\theta = 17^\circ$ statt.

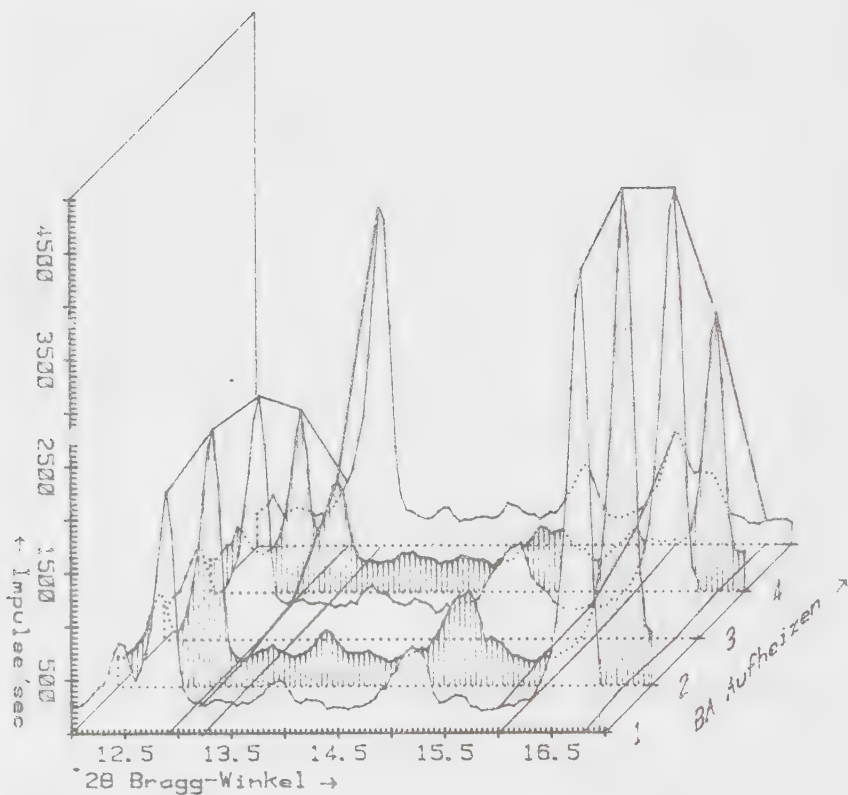


Abb. 49 RD's von BA-H während des Aufheizens bei

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 1) 298 K (25 °C) | 4) 433 K (160 °C) |
| 2) 393 K (120 °C) | 5) 443 K (170 °C) |
| 3) 423 K (150 °C) | |

Bis etwa 423 K (150 °C) bleibt das Gittermuster prinzipiell erhalten. Bei 433 K (160 °C) machen sich nun gravierende Abwandlungen bemerkbar, die bis 443 K (170 °C) dann abgeschlossen sind. Im dargestellten Ausschnitt verschwinden dabei vor allem der Hauptpeak bei $2\theta = 16,8^\circ$ und der bei $2\theta = 12,9^\circ$, während u.a. Peaks bei $2\theta = 16^\circ$ und ein Hauptpeak bei $2\theta = 13,2^\circ$ neu auftreten.

Trägt man die Impulshöhenveränderung bei diesen vier charakteristischen Winkeln gegen die Temperatur auf (Abb. 50), so erhält man durch den Schnittpunkt der resultierenden Kurven ein weiteres Indiz für die Umwandlungstemperatur von Modifikation II nach I β bei ca. 438 K (165 °C).

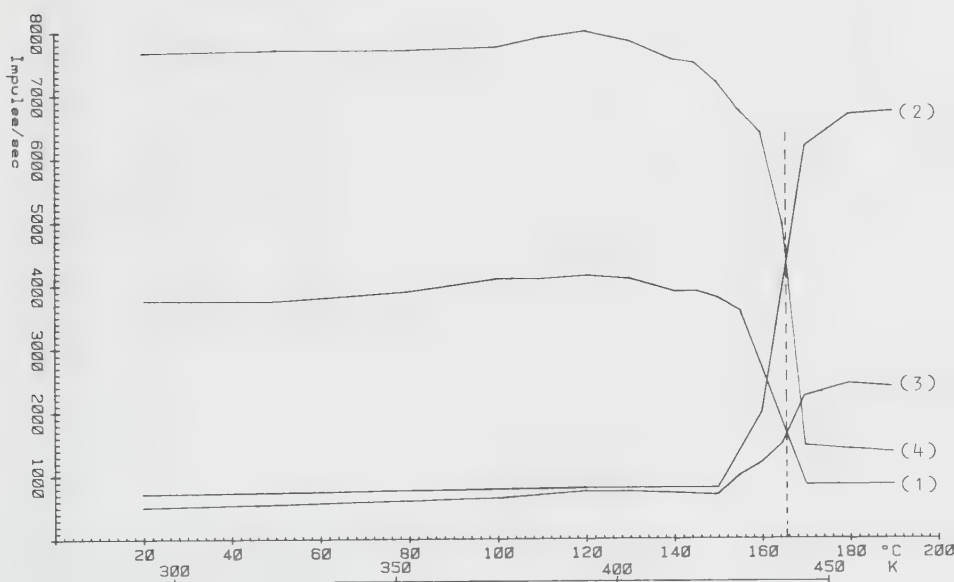


Abb. 50 Peakhöhenveränderung in den RD's bei den BRAGG-Winkeln:

1) $2\theta = 12,9^\circ$ 3) $2\theta = 16,0^\circ$

2) $2\theta = 13,2^\circ$ 4) $2\theta = 16,8^\circ$

in Abhängigkeit von der Temperatur

3.8.1.2. Andere BA-Ausgangssubstanzen

Als Endprodukt dieses Heizprozesses erhält man das Spektrum der reinen $\text{I}\beta$ -Modifikation, die ja - wie bereits früher durch DTA nachgewiesen - durch Tempern entsteht (Abb. 51).

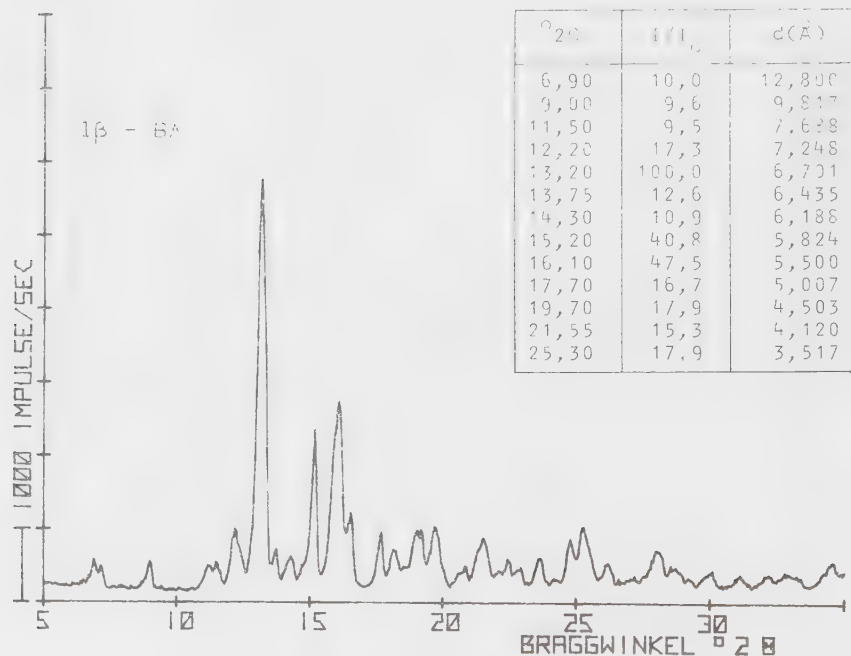


Abb. 51 RD der $\text{I}\beta$ -Modifikation

Dieses Diffraktogramm weicht durch die veränderte Lage eines Hauptpeaks, aber auch sonst im Kurvenverlauf, deutlich von dem der Ausgangssubstanz H ab.

Abweichend von dem Diffraktogramm der $\text{I}\beta$ -Form stellt sich dasjenige der reinen $\text{I}\alpha$ -Modifikation, die durch Auskristallisation z.B. aus Aceton gewonnen wurde, dar (Abb. 52).

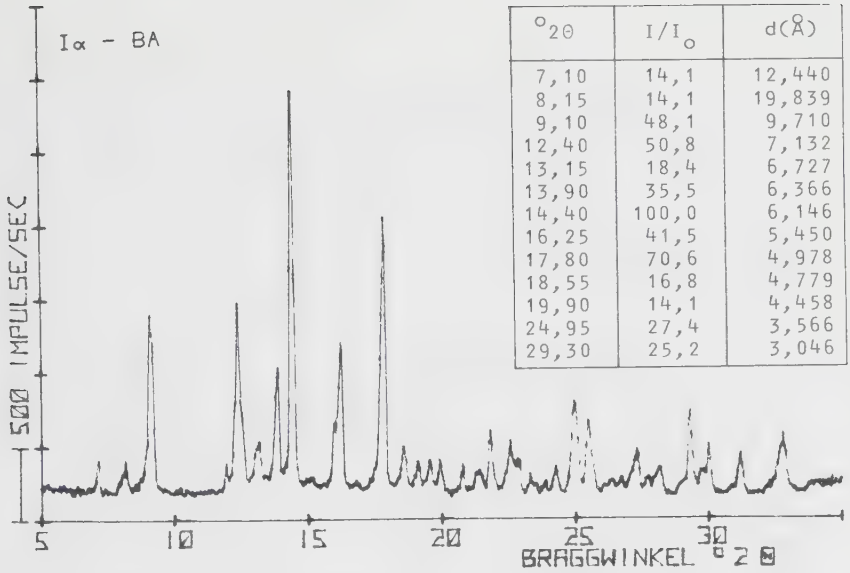


Abb. 52 RD der I_{α} -Modifikation
(gewonnen durch Kristallisation aus Aceton)

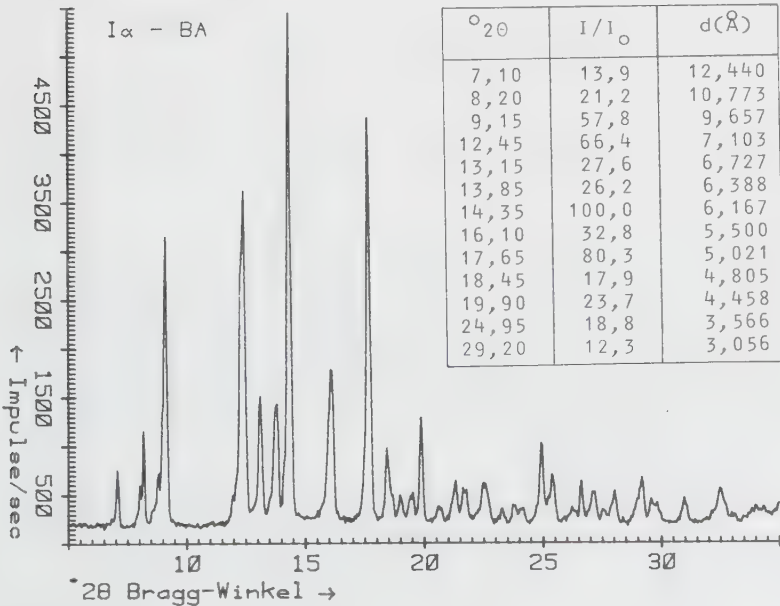


Abb. 52a RD der I_{α} -Modifikation
(gewonnen durch Tempern einer Aceton/Wasser-
Ausfällung (II und I_{α}) bei 443 K (170 °C))

Wenn man, gemäß Schemazeichnung 1, S. 87, davon ausgeht, daß aus einem Gemisch von Modifikation II und I α bei ca. 443 K (170 °C) eine Umwandlung in die reine I α -Form stattfindet, so müßte ein weitgehend identisches Röntgendiffraktogramm resultieren. Abbildung 52a bestätigt die aufgrund der DTA-Untersuchungen gewonnene Annahme. Somit war es möglich, in Zweifelsfällen die Identität der einzelnen Modifikationen zu überprüfen.

Als deutlichste Unterschiede zwischen I α - und I β -Form tritt - bis $2\theta = 20^\circ$ - das Fehlen von Reflexen bei ca. $2\theta = 11,5^\circ$ und $2\theta = 15,2^\circ$ im Falle der I α -Form in Erscheinung. Umgekehrt werden bei der I β -Modifikation keine bzw. nur sehr schwache Reflexe bei $2\theta = 8,2^\circ$ (-) bzw. $2\theta = 9,1^\circ$, $2\theta = 12,45^\circ$ und $2\theta = 17,7^\circ$ (sehr gering) beobachtet. Diese Unterschiede waren ebenso reproduzierbar festzustellen, wie die Lage der Hauptreflexe von $2\theta = 13,2^\circ$ für I β - und $2\theta = 14,4^\circ$ für I α -BA.

Faßt man die bisherigen Ergebnisse von Röntgen- und DTA-Untersuchungen zusammen, so kann man eine sehr gute Ergänzung durch die Kombination beider Methoden feststellen:

- 1) Liegen Modifikationsgemische vor, so ist die Aussagekraft der DTA größer, weil verschiedene Zustände nacheinander erfaßt werden.
- 2) Geht es darum, neue Modifikationen oder bis nach der ersten Umwandlung aufgeheizte Modifikationsgemische zu charakterisieren, so ist der Röntgendiffraktometrie der Vorrang zu geben. Damit könnten Artefakte, die durch verunreinigende Schmelzpunktdepressionen in der DTA zu Fehlinterpretationen führen würden, ausgeschlossen werden.

Ferner konnte noch der röntgenamorphe Zustand der Sprühtrocknungsprodukte eindeutig nachgewiesen werden (Abb. 53).

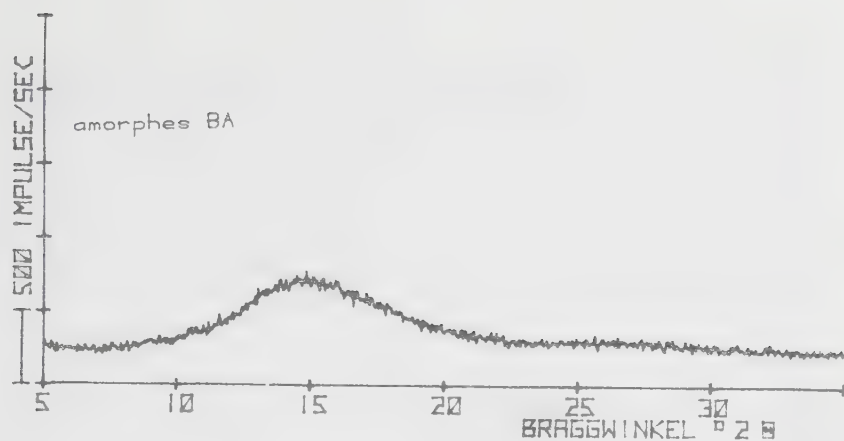


Abb. 53 RD von amorphem, sprühgetrocknetem BA

Auch die Kristallisation des röntgenamorphen BA (CHCl_3 -Sprühtrocknungsprodukt) nach 2 Monaten findet ihre Bestätigung im RD-Kurvenverlauf (Abb. 54).

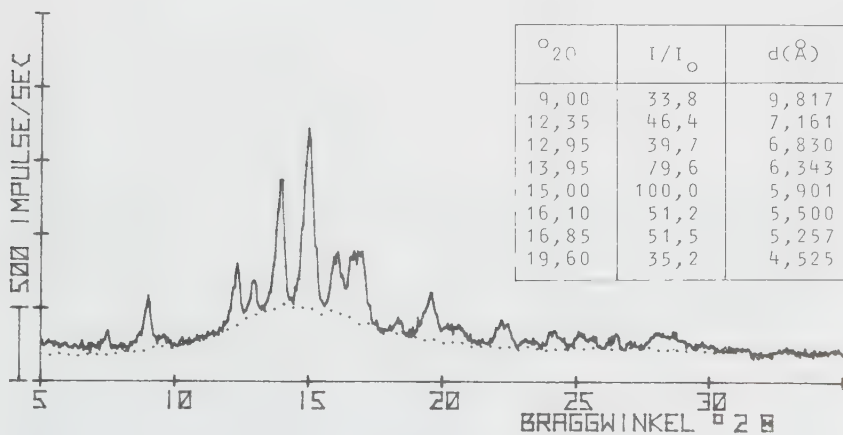


Abb. 54 RD von 2 Monaten gelagertem, aus CHCl_3 sprühtrocknetem BA

Die erheblich bessere physikalische Stabilität der aus $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ sprühgetrockneten röntgenamorphen Substanz wird im Röntgendiffraktogramm sichtbar.

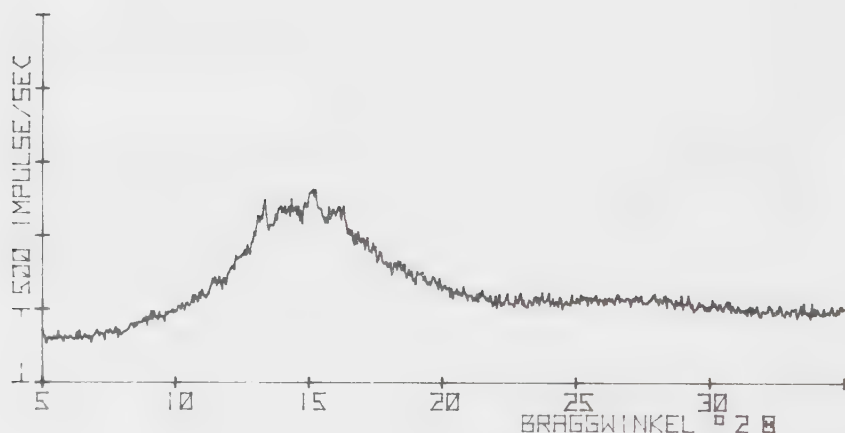


Abb. 55 RD von 32 Monaten gelagertem, aus $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (7+3) sprühgetrocknetem BA

Hier findet selbst nach Lagerung über einen Zeitraum von 32 Monaten praktisch keine Kristallisation statt (Abb. 55).

Bei Produkten, die neben kristallinen Anteilen auch amorphe Bestandteile enthalten, kann man den Kristallinitätsgrad röntgendiffraktometrisch bestimmen. Wie in früheren Arbeiten unseres Arbeitskreises ausgeführt (5,24), setzt man dabei die Flächen des amorphen (F_a) und des kristallinen (F_k) Anteils einer Probe zueinander in Beziehung. Man erhält dann den sogenannten Kristallinitätsindex (K.I.).

$$\text{K.I.} = \frac{F_k}{F_k + F_a}$$

Die Bestimmung dieses K.I.-Wertes erfolgt - nachdem man die Intensitäts-Werte einer rein amorphen Substanz gespeichert hat - durch Vergleich der Flächenintegrale einzelner Proben über ein Rechnerprogramm.

So wurde der Kristallinitätsgrad des 2 Monate gelagerten Sprühtrocknungsproduktes aus CHCl_3 mit K.I. = 0,45 bestimmt. Das stabile amorphe Produkt aus $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ wies einen K.I. unter 0,2 auf.

Ebenso konnte auch die tribotrop oder thermotrop erfolgte Rekristallisation der Sprühtrocknungsprodukte (vgl. Schema 2) nachgewiesen werden, wobei offensichtlich bevorzugt die I β -Modifikation (Hauptreflex bei $2\theta = 13,3^\circ$) resultiert (Abb. 56): Die gemahlene Probe wies einen K.I. von 0,34 auf.

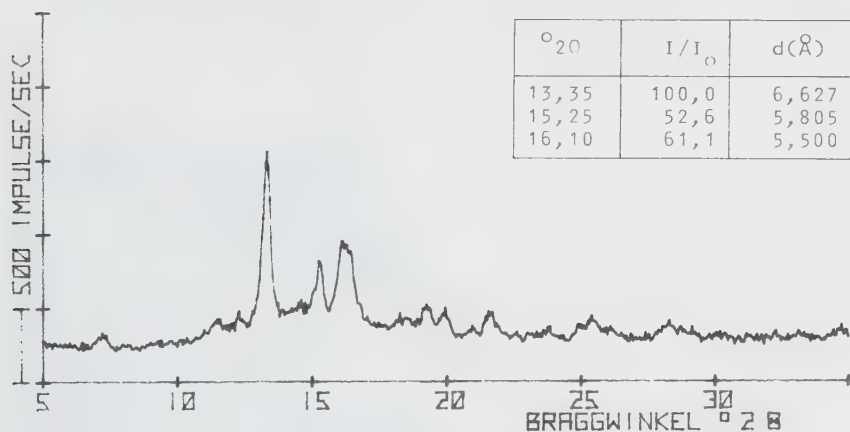


Abb. 56 RD von 5 min. gemahlenem, sprühetrocknetem BA

Umgekehrt konnte bei den Mahlprodukten der Ausgangssubstanz eine Teilamorphisierung festgestellt werden (Abb. 57). Der K.I. einer 2 Stunden gemahlene Probe lag hier bei 0,26. Auf der einen Seite werden durch den Scherprozeß Kristallisationsvorgänge

in der amorphen Substanz bewirkt; auf der anderen Seite treten durch die Einwirkung mechanischer Kräfte Gitterstörungen auf.

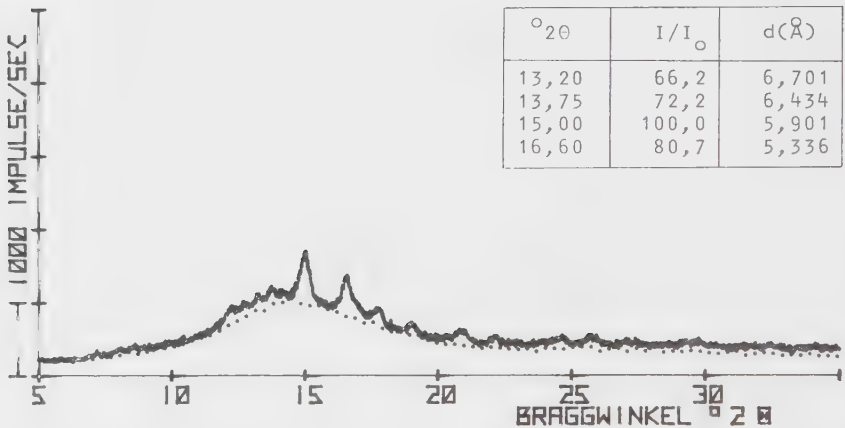


Abb. 57 RD von 120 min. gemahlenem BA-H

Zusammenfassung

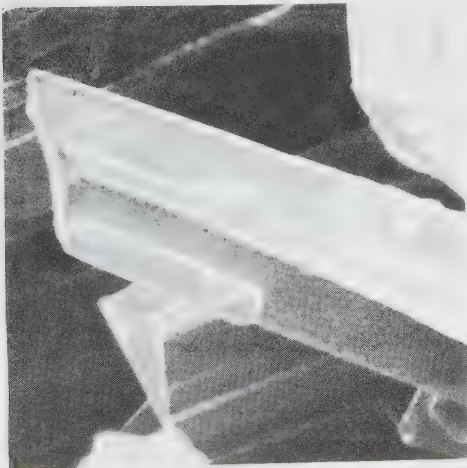
Insgesamt konnten durch die Röntgenbeugungsuntersuchungen die durch DTA gewonnenen Ergebnisse bestätigt und noch offene Fragen beantwortet werden. Insbesondere gelang die klare Kennzeichnung der $I\alpha$ - und $I\beta$ -Modifikationen, die im Rahmen der DTA-Untersuchungen nicht immer eindeutig identifiziert werden konnten. Dennoch sollten in einzelnen Fällen zusätzliche Methoden zur Erhärtung der bisher getroffenen Aussagen angewandt werden.

3.8.2. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Zur Unterscheidung von Kristallformen dient u.a. auch die Rasterelektronenmikroskopie. Wenngleich die Probenaufbereitung im Vergleich zur Transmissionselektronenmikroskopie einfacher ist, muß auch hier mit präparationsbedingten Artefaktbildungen gerechnet werden. So kann es möglicherweise bei der erforderlichen Bedampfung mit Gold im Vakuum (13,3 Pa) durch die auftretenden höheren Temperaturen zu thermisch bedingten Veränderungen kommen.

Abbildung 5 (S. 21) und Abbildung 58 zeigen das Ausgangsmaterial H, das in mehr oder weniger langen Nadeln vorliegt.

Die durch Tempern gewonnene I β -Modifikation enthält neben diesen Elementen Bezirke, die - gemäß Abbildung 59a - auf den Schmelzprozeß zurückzuführen sind. Bei den Kristallen fällt weiterhin auf, daß an den Bruchflächen Hohlräume sichtbar sind, die offensichtlich durch den Temperprozeß entstanden sind (Abb. 59b).

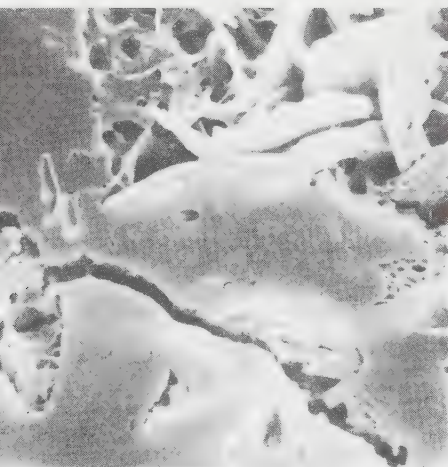


5 µm

Abb. 58

Rasterelektronenmikroskopische (REM)-Aufnahme von kristallinem BA-H

Vergrößerung: 1500-fach



a) | 5 µm



b) | 5 µm

Abb. 59 REM-Aufnahmen von BA Iβ-Modifikation
Vergrößerung jeweils: 2000-fach

Mahlbelastung führt - wie durch DTA und Röntgendiffraktometrie nachgewiesen wurde - zu teilmamorphen Produkten. Eine 120 min. in der RETSCH-Mühle gemahlene Probe der Handelssubstanz H zeigt im rasterelektronenmikroskopischen Bild überwiegend Kristalloberflächen, die teilweise "amorph" überzogen erscheinen (Abb. 60). Ähnliche Phänomene beobachtete schon DÖLLE (5) an mikronisiertem Digoxin. Andere Bezirke zeigen bei stärkerer Vergrößerung noch deutlich Bruchstücke der Ausgangskristalle (Abb. 61). Daneben beobachtet man feinste Kristallnadeln mit 0,1 - 0,2 µm Durchmesser, die als auffälliges Nadelgeflecht in Erscheinung treten (Abb. 62).

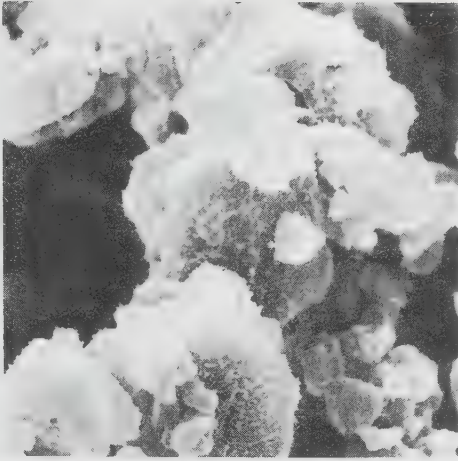


Abb. 60

10 μm

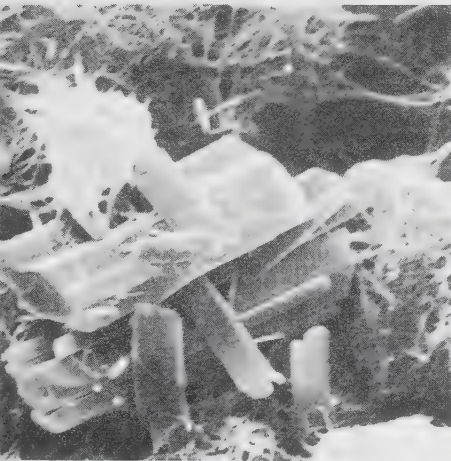


Abb. 61 5 μm

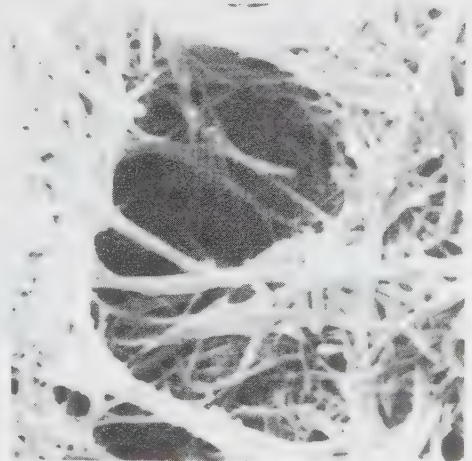
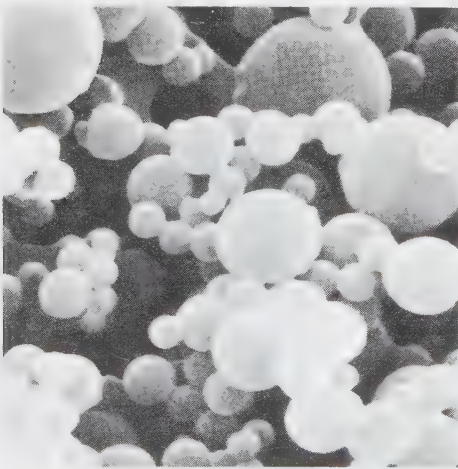


Abb. 62 2 μm

Abb. 60 - 62 REM-Aufnahmen von 120 min. gemahlenem BA-H
Vergrößerung: 1300-fach (60); 1900-fach (61);
5000-fach (62)

Diese im Ausgangsmaterial H nicht nachweisbaren feinsten "abgerundeten" Stäbchen können tribotrop aus den amorphen Bezirken der gemahlene Produkte rekristallisiert sein. Falls diese Annahme zutreffen würde, müßte aus einem rein amorphen BA-Material unter den gleichen Bedingungen in der RETSCH-Mühle die Kristallisation dieser extrem feinen nadelförmigen Kristalle zu erzielen sein. Zur Klärung dieser Frage wurde, durch Sprühtrocknung gewonnenes, rein amorphes Material sowie eine ca. 10 min. gemahlene Probe rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Gemäß Abbildung 63 bis 65 erkennt man im Sprühprodukt ausschließlich kugelförmige Partikeln, während das Mahlprodukt in Teilbereichen ebenso diese Stäbchenform erkennen läßt.



5 µm

Abb. 63

REM-Aufnahme von sprühtrocknetem BA
Vergrößerung: 1500-fach

Diese Beobachtung kann als weiterer deutlicher Nachweis dafür gelten, daß durch tribomechanische Belastung sowohl von kristallinen als auch von amorphen Proben ausgehend ein teilkristalliner Zwischenzustand bei BA erreicht werden kann.

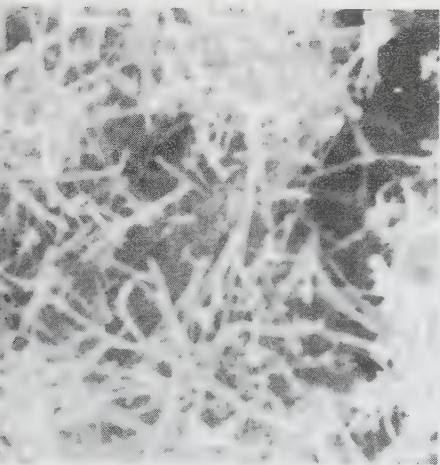


Abb. 64 | 2 µm

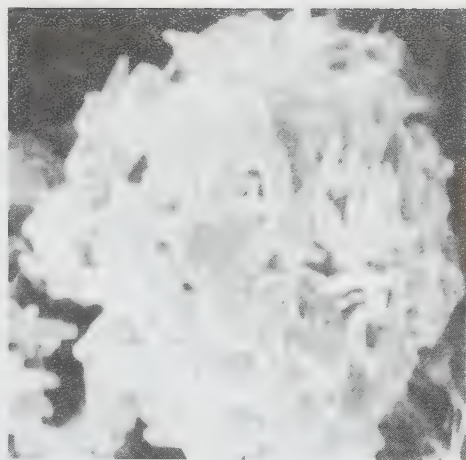


Abb. 65 | 2 µm

REM-Aufnahmen von 10 min. gemahlenem, sprühgetrocknetem
BA

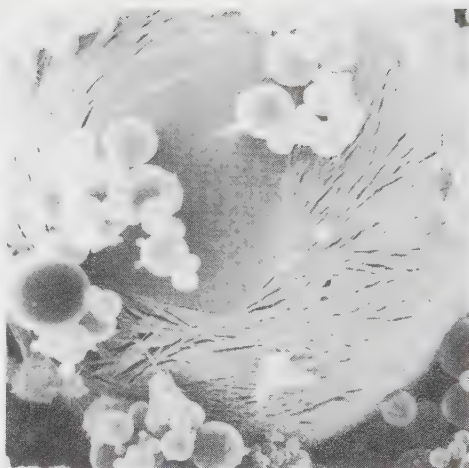
Vergrößerung: 64) 4000-fach 65) 3500-fach

Schließlich wurde durch REM-Aufnahmen von gelagerten Sprüh-
trocknungsprodukten eindeutig belegt, daß eine vom Solvens der
Sprühlösung abhängige Rekristallisation auftrat.

Wird aus reinem Chloroform gewonnenes Material untersucht, er-
folgt eine charakteristische Rekristallisation im Laufe der
Lagerung.

Wie Abbildung 66 und 67 zeigen, findet nach ca. 2 Monaten La-
gerung bei Raumtemperatur in einem geschlossenen Gefäß eine
Oberflächenkristallisation statt. Neben noch weitgehend amor-
phen Partikeln sind deutlich Kristalle von ca. 5 µm Länge und
0,5 µm Breite zu erkennen.

Das ebenfalls amorph anfallende Sprühtrocknungsprodukt aus
Chloroform/Methanol (7+3) zeigte diese Kristallisationserschei-
nung nach 2,5 Jahren nicht. Wie erwähnt, findet allerdings bei
tribomechanischer Belastung ebenfalls eine Rekristallisation
statt.

Abb. 66 |————| 5 μm Abb. 67 |————| 10 μm

REM-Aufnahmen von 2 Monaten gelagertem, aus CHCl_3
sprühgetrocknetem BA

Vergrößerung: 66) 2000-fach

67) 900-fach

3.8.3. Polarisationsmikroskopische Untersuchungen

Das Polarisationsmikroskop, insbesondere wenn es mit einer Heizeinrichtung ausgestattet ist, stellt heute immer noch in vielen Fällen das einfachste Analysengerät zur Polymorphieforschung dar. Man kann damit auf schnellstem Wege polymorphe Modifikationen auffinden, Schmelz- und u.U. Umwandlungstemperaturen bestimmen (3).

Auch bei BA konnten die bei definierten Temperaturen aufgetretenen Umwandlungen dokumentiert werden (s. Abb. 7 - 10, S. 27). Auch thermo- und tribotrope Veränderungen amorpher, isotroper Kügelchen der Sprühtrocknungsprodukte konnten eindeutig nachgewiesen werden.

Wie aus Abbildung 68 hervorgeht, liegt nach dem Sprühtrocknungsprozeß ein vollständig isotropes Produkt vor. Die thermotrop bei 373 - 423 K (100 - 150 °C) stattfindende sowie die tribotrop induzierte Kristallisation ist aus den Polarisationsfarben gemäß Abbildung 69 und 70 zu erkennen.

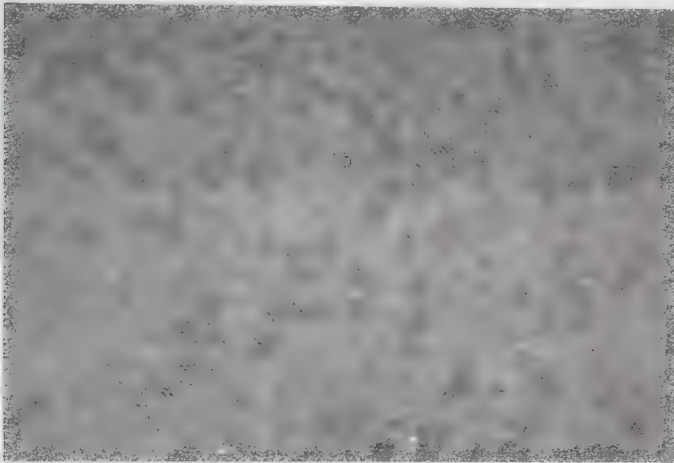
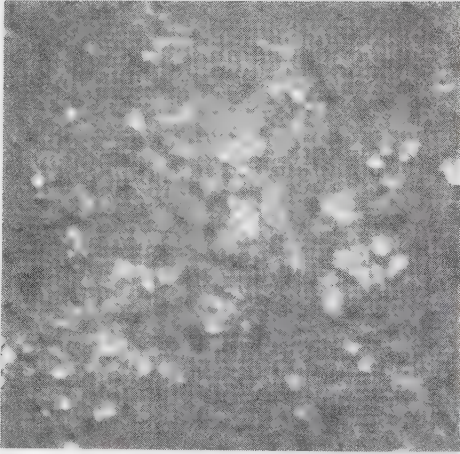


Abbildung 68

Abb. 68 Polarisationsmikroskopische (PM) Aufnahme von
sprühgetrocknetem BA
Vergrößerung: 600-fach

Es war indessen nicht möglich, die Modifikationen Ia und Ib polarisationsmikroskopisch zu unterscheiden.

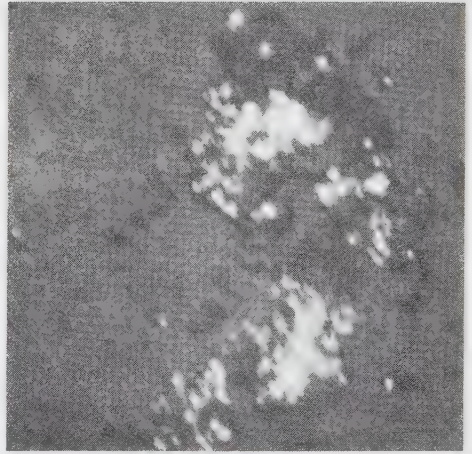
Kristalle der Ausfällungen zeigten immer das Erscheinungsbild der Ausgangssubstanz H (s. Abb. 4, S. 21).



— 50 μm

Abb. 69

PM-Aufnahme von sprühgetrocknetem BA bei 403 K (130 °C)
Vergrößerung: 300-fach



— 50 μm

Abb. 70

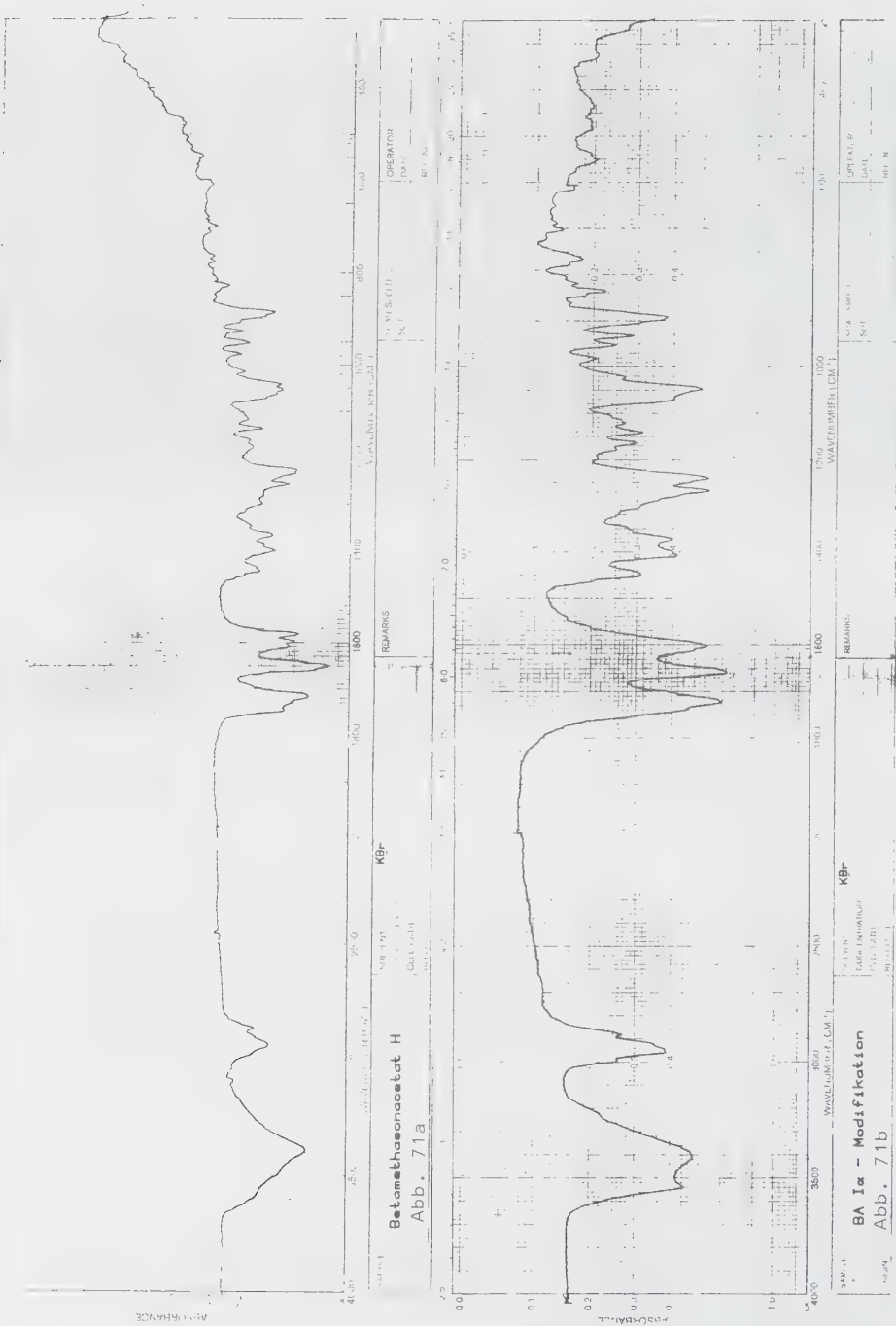
PM-Aufnahme von sprühgetrocknetem BA, 5 min. gemahlen
Vergrößerung: 300-fach

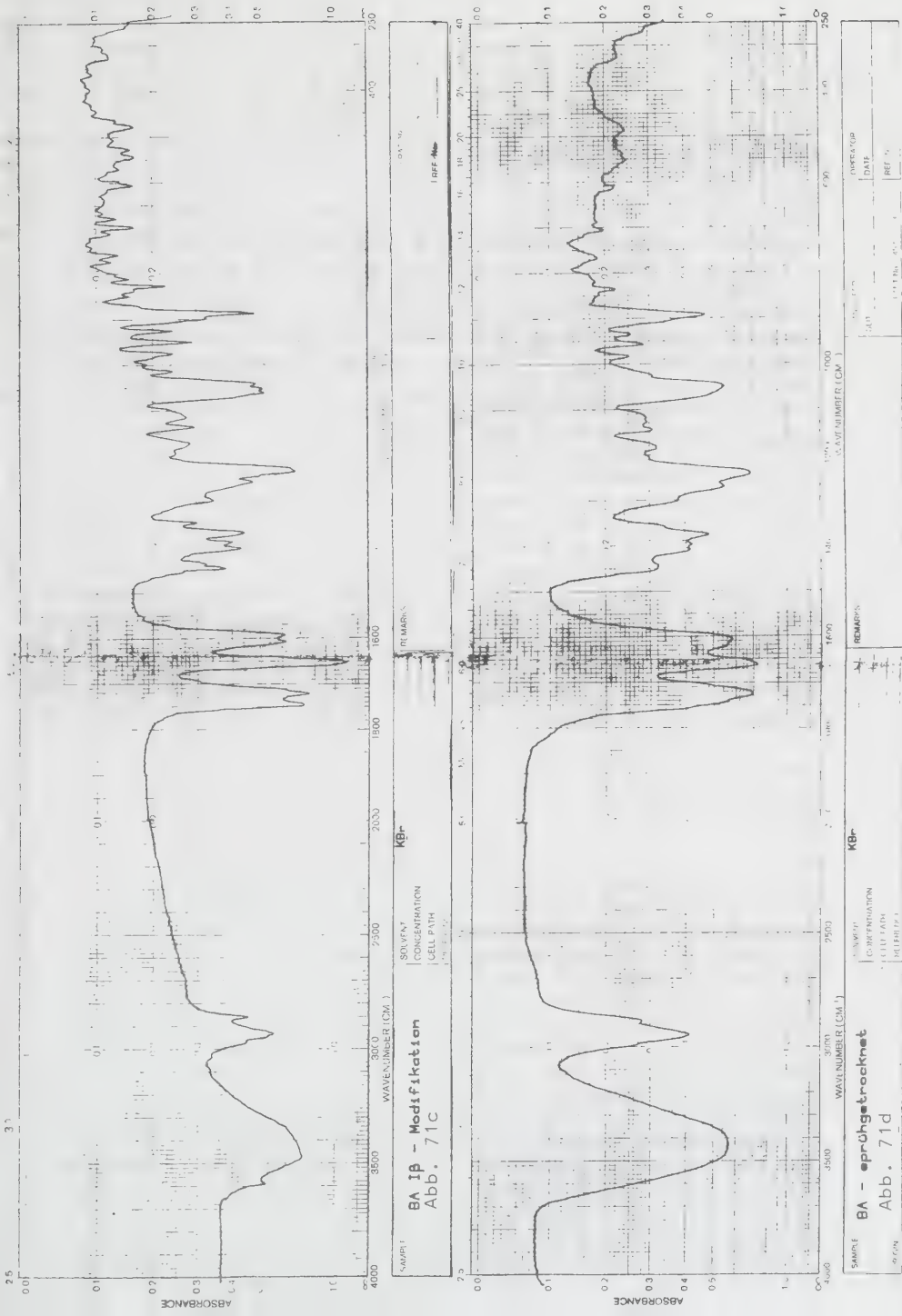
3.8.4. Infrarotspektroskopische Untersuchungen

Kristallgitter finden bekanntlich auch im IR-Spektrum ihren Ausdruck, weil sich Änderungen in der unmittelbaren Umgebung IR-aktiver Stellen der Moleküle ergeben, wenn sie sich in die dreidimensionale, periodische Anordnung des Gitters einfügen (3). IR-Untersuchungen zur Strukturaufklärung von Steroiden wurden schon 1952 von JONES et al. (102,103) durchgeführt. Polymorphiebedingte Unterschiede der IR-Spektren bei Steroiden - auch für BA - sind von MESLEY beschrieben worden (22). Er untersuchte dabei eine kristalline und eine amorphe Phase von BA. Wenngleich es gerade bei Steroiden mit mehreren OH-Gruppen sehr schwierig ist, polymorphiebedingte Differenzen zu erfassen, so konnte der Autor bei den IR-Aufnahmen doch gewisse Veränderungen feststellen.

Nachdem es gelungen war, auch reine Kristallformen darzustellen, sollte nun geprüft werden, ob Unterscheidungsmöglichkeiten durch Anwendung der IR-Methode bestehen. Es sei angemerkt, daß bei der Probenaufbereitung nach der KBr-Methode physikalische Veränderungen nicht ausgeschlossen werden können. Allerdings wären andere Aufbereitungstechniken wie z.B. Einbettung in Paraffin, Herstellung eines Filmes oder Auflösung der Proben in einem organischen Lösungsmittel mit wesentlich größeren Fehlern behaftet.

Betrachtet man nun die Spektren der BA-Ausgangssubstanz H (Abb. 71a), der Ia-Form (Abb. 71b), der Ib-Modifikation (Abb. 71c) und des amorphen Sprühtrocknungsproduktes (Abb. 71d), so fällt auf, daß die deutlichsten Unterschiede erwartungsgemäß im Bereich der OH-Valenzschwingungen zwischen 3600 und 3100 cm^{-1} zu beobachten sind.





3.8.5. Thermogravimetrie

Mittels der Thermogravimetrie (TG) lassen sich in der Polymorphieforschung Veränderungen nachweisen, die bei bestimmten Temperaturen mit einem Substanzverlust oder -gewinn verbunden sind (32). Dies sind vorwiegend der Pseudopolymorphie zuzurechnende Lösungsmittelverluste von Hydraten und Solvaten. Zusätzlich können auch Feuchtigkeitsbestimmungen durchgeführt und die Zersetzung einer Substanz genauer beschrieben werden.

Mit Hilfe der TG sollte daher näherer Aufschluß über die erste in der DTA zu Tage tretende endotherme Auslenkung gewonnen werden (s. Kap. 3.4.3). Dazu wurden jeweils Proben von ca. 50 mg der BA-Produkte im Tiegel einer Mettler-TG-Apparatur eingewogen und deren Gewichtsveränderung aufgezeichnet. Die TG-Kurve der Ausgangssubstanz H zeigt einen Verlust von 1,7 % im Bereich von 340 K (67 °C) bis 413 K (140 °C). Dieser Wert liegt deutlich unter dem von der USP XX angegebenen Wassergrenzwert von 4 % (78). Ab ca. 498 K (225 °C) setzt dann die Zersetzungsreaktion ein (Abb. 72).

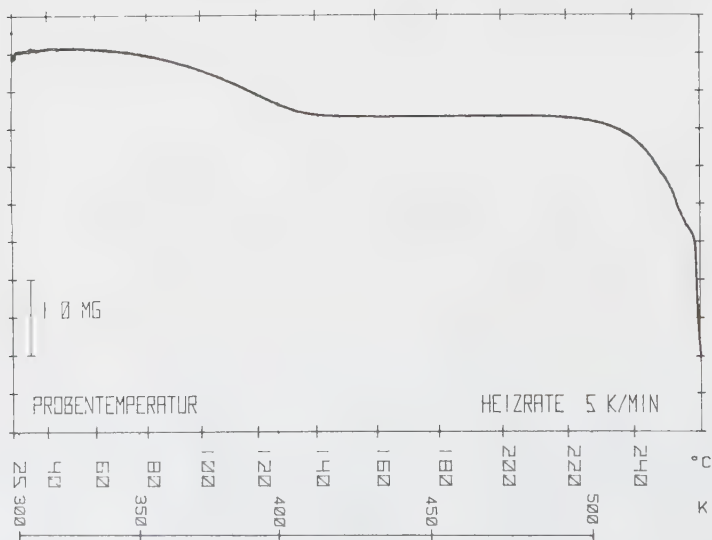


Abb. 72 TG-Kurve von BA-H; Einwaage: 50,1 mg

Proben der Ausgangssubstanz, die mehrere Stunden bei 378 K (105 °C) und 413 K (140 °C) getempert wurden, zeigten - wie bei der DTA - auch in der TG-Kurve keinen unterschiedlichen Verlauf. Erst ein Aufheizen der Substanz über die Schmelztemperatur der Modifikation II hinaus (ca. 438 K (165 °C)) ergab unter 498 K (225 °C) keinen Substanzverlust (Abb. 73).

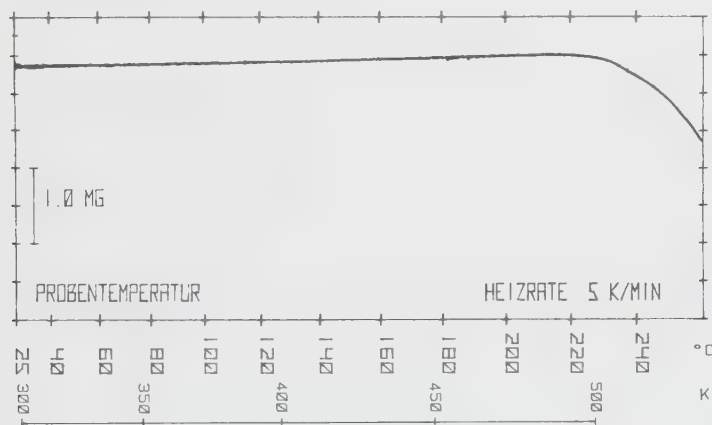


Abb. 73 TG-Kurve von bei 438 K (165 °C) getempertem
BA $\cong$ I β -Form
Einwaage: 50,1 mg

Ein ähnliches Erscheinungsbild zeigten im übrigen erwartungsgemäß auch die reinen Modifikationen I α und I β .

In diesem Verhalten liegt auch ein Beweis, daß keine im Zuge der Herstellung der I α - und I β -Modifikation eventuell gebildeten Solvate vorliegen.

Die TG-Kurven von I α und I β -Form unterschieden sich nur hinsichtlich der Temperaturen, bei denen die Zersetzungsreaktion begann. Dies steht im Einklang mit der Beobachtung der Thermostabilität von I β - bzw. der bei tieferen Temperaturen - 463 K

(190 °C) gegenüber 493 K (220 °C) - einsetzenden Zersetzung von I α -Modifikation (Abb. 74).

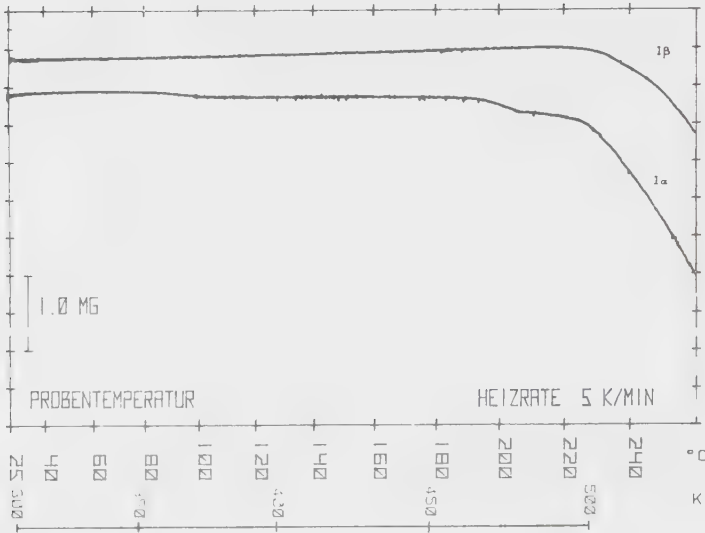


Abb. 74 TG-Kurven von I α - und I β -Modifikation
Einwaagen: 50,2 mg (I α) und 50,1 mg (I β)

Sollte der eingangs beschriebene erste Substanzverlust auf aus der Luft sorbiertes Wasser zurückzuführen sein, so müßte bei einer Abkühlkurve wieder eine Gewichtszunahme auftreten. Daher wurde die Ausgangssubstanz H nur bis 413 K (140 °C) aufgeheizt und anschließend der Abkühlvorgang durch TG beobachtet (Abb. 75). Dabei zeigte sich tatsächlich, daß die Probe wieder schwerer wurde und nach ca. 1 Stunde annähernd das Ausgangsgewicht erreichte. Daß die somit erwiesene Wasserzunahme nicht so rasch wie bei der DTA-Untersuchung erfolgte, ist auf die wesentlich größere Probenmenge zurückzuführen (ca. 20-fache Einwaage gegenüber der DTA-Probe).

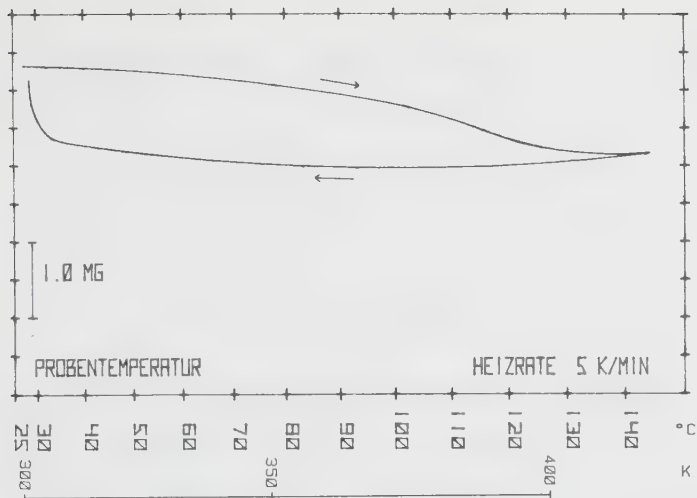


Abb. 75 TG-Kurven von BA-H beim Aufheizen und Abkühlen
Einwaage: 49,8 mg

Bei dem Temperprozeß 413 K (140 °C) findet ein Schmelzen der Modifikation II noch nicht statt. Es stellte sich nun die Frage, ob die unter den beschriebenen Bedingungen reversible Wasseraufgabe bzw. -aufnahme an die Anwesenheit dieser Modifikation II gebunden ist. Zur Klärung dieser These wurde anschließend das Modifikationsgemisch der Ausgangssubstanz H auf 438 K (165 °C) getempert. Die dabei entstehende Iß-Form (s. S. 127) zeigte nun keine Gewichts- bzw. Wasseraufnahme bei Abkühlen auf Raumtemperatur. Somit ist die Feuchtheitsaufnahme der wasserfreien Substanz an die zumindest teilweise vorhandene Modifikation II gebunden.

Ob und unter welchen Bedingungen bei den verschiedenen Ausgangssubstanzen Hydratbildung auftritt, soll im folgenden Kapitel näher erörtert werden.

3.9. Hydrat- bzw. Solvatbildung bei Betamethasonacetat

3.9.1. Solvate

Durch thermogravimetrische und DTA-Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß bei den aus organischen Lösungsmitteln unter den angegebenen Bedingungen (s. S. 39) gewonnenen BA-Produkten keine Solvate gebildet werden. Anders liegen die Verhältnisse bei dem stereoisomeren Dexamethasonacetat, von dem KUHNERT-BRANDSTÄTTER et al. (19,53) eine größere Anzahl von Solvaten (z.B. mit Chloroform, Aceton, Ethanol usw.) beschrieben. Somit ist es gerechtfertigt, daß ein Zusammenhang zwischen der Stellung der Methylgruppe an C₁₆ des Steroidgerüsts und dem Einbau von Lösungsmittelmolekülen in die betreffenden Kristalle gesehen werden muß.

3.9.2. Hydrate

3.9.2.1. Herstellung eines BA-Hydrates

Wie bereits bei der Diskussion über das Verhalten der Substanzen bei Naßmahlung und Lagerung in wässrigem Milieu dargelegt wurde (s. Kap. 3.5 und 3.7), muß bei Steroiden mit einer Hydratbildung gerechnet werden. Nach den DTA-Untersuchungen konnte für das Modifikationsgemisch der Ausgangssubstanz H und die reine I α -Form bei Lagerung in wässrigem Milieu kein charakteristischer "Hydratpeak" festgestellt werden.

Abweichend hiervon wurden relativ scharfe "Hydratpeaks" in der DTA bei folgenden Produkten beobachtet:

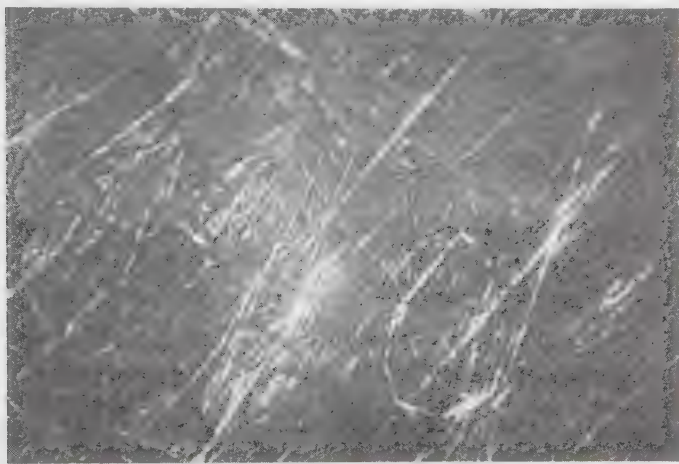
- (1) I α -Modifikation nach Naßmahlung
- (2) I β -Modifikation nach Naßmahlung und Lagerung
in wässrigem Milieu
- (3) Amorphes BA nach Naßmahlung und Lagerung in
wässrigem Milieu

(s. Abb. 40, S. 82, 41 S. 83, 46, S. 97 und Schema 4, S. 139).

Die bei diesen BA-Formen angewandten Methoden können alle als Gewinnungsmöglichkeit für das BA-Hydrat angesehen werden, wobei Methode (2) der Vorzug zu geben ist. Außer dem Hinweis auf das Vorliegen eines BA-Hydrates durch DTA sollten weitere Untersuchungen eine Bestätigung bringen.

3.9.2.2. Charakterisierung des BA-Hydrates

Polarisationsmikroskopisch konnte in den Fällen (1) bis (3) das für galenische Zubereitungen gefürchtete Kristallwachstum durch die Ausbildung langer Nadeln beobachtet werden (Abb. 76).



— 50 μm

Abb. 76 PM-Aufnahme von BA-Hydrat; Vergrößerung: 300-fach

Diese Erscheinung ist auch für die Hydratbildung der strukturverwandten Steroide Dexamethasonacetat (23,91) und Fluprednylidacetat (16) beschrieben worden.

Beim Erhitzen auf 378 K (105 °C) zerfielen die BA-Hydrat-Nadeln in kleinste Partikelchen, die zunächst isotrop erschienen, bei weiterem Aufheizen jedoch Polarisationsfarben wieder erkennen ließen (I β -Form) und schließlich ab ca. 480 K (207 °C) unter Zersetzung zu schmelzen beginnen.

Diese Beobachtung läßt sich mit der DT-Analyse in Einklang bringen (s. Abb. 42, S. 91). Der erste endotherme Peak bei 376 K (103 °C) ist auf den Verlust des Hydratwassers zurückzuführen. Dabei entsteht die energiereiche Form des Anhydrates. Diese Interpretation beruht auf der Annahme, daß tatsächlich ein Hydrat vorliegt. Wäre das Wasser nur sorptiv in den Proben (1) - (3) enthalten, so müßten sich diese Produkte im Polarisationsheizmikroskop und in der DTA - nach der H₂O-Entfernung bei 378 K (105 °C) - wie die betreffenden Ausgangsmaterialien (1) - (3) vor der Wasserbehandlung verhalten. Diese Muster - mit Ausnahme des amorphen - waren dadurch gekennzeichnet, daß sie keine exotherme Auslenkung vor dem Schmelzpeak aufwiesen. Wie aus Abbildung 77 hervorgeht, entsteht bei Entfernung des Wassers bei 378 K (105 °C) ein energiereiches Produkt, das bei 393 K (120 °C) in die I β -Modifikation umgewandelt wird.

Wird einem BA-Hydrat bei 378 K (105 °C) das Wasser entzogen und das resultierende Anhydrat in Wasser dispergiert, so findet sehr rasch eine Rehydratation unter Ausbildung von Nadeln statt. Dieser Prozeß ist mit einem Kristallwachstum verbunden.

Weitere Beweise für das Vorliegen eines Hydrates sollten nun durch TG- und RD-Untersuchungen erbracht werden. Bei Betrachtung der TG-Kurve (Abb. 78) des Hydrates fällt ein im Gegensatz zur Ausgangssubstanz H scharfer Knick bei ca. 383 K (110 °C) auf, der das Ende eines bei ca. 343 K (70 °C) beginnenden Substanzverlustes anzeigt. Diese stufenweise Gewichtsabnahme ist für Kristallhydrate oder -solvate oft charakteristisch. Es trat ein Wasserverlust von 3,95 %, entsprechend einem Molverhältnis von BA : H₂O = 1 : 0,99, auf. Daraus kann das Vorliegen eines Monohydrates abgeleitet werden.

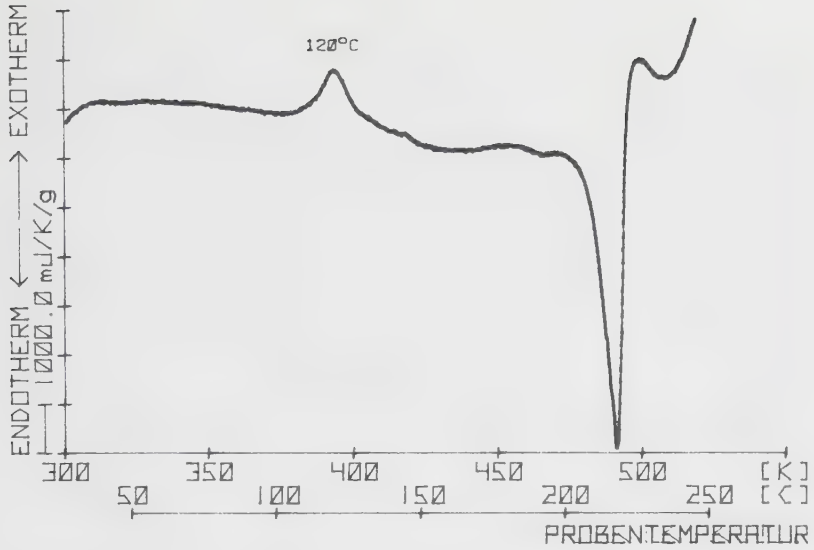


Abb. 77 DTA-Kurve von bei 378 K (105 °C) getrocknetem BA-Hydrat

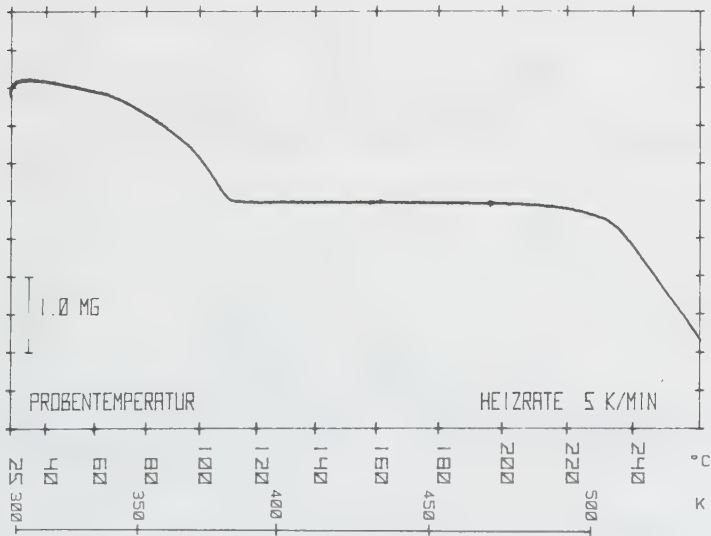


Abb. 78 TG-Kurve von BA-Hydrat; Einwaage: 36,4 mg

Die Existenz eines pseudopolymorphen Hydrates läßt sich auch röntgendiffraktometrisch nachweisen, da eine Wassereinlagerung in das Kristallgitter zu Strukturveränderungen führen kann. Das Diffraktogramm des Hydrates zeigt nun tatsächlich ein von der Ausgangssubstanz wie auch von der reinen I β -Modifikation abweichendes Interferenzmuster (Abb. 79a; vgl. Abb. 48 und 51, S. 105/108). Besonders im Bereich bis $2\theta = 10^\circ$ und bei der Lage der Hauptreflexe waren deutliche Unterschiede zu erkennen.

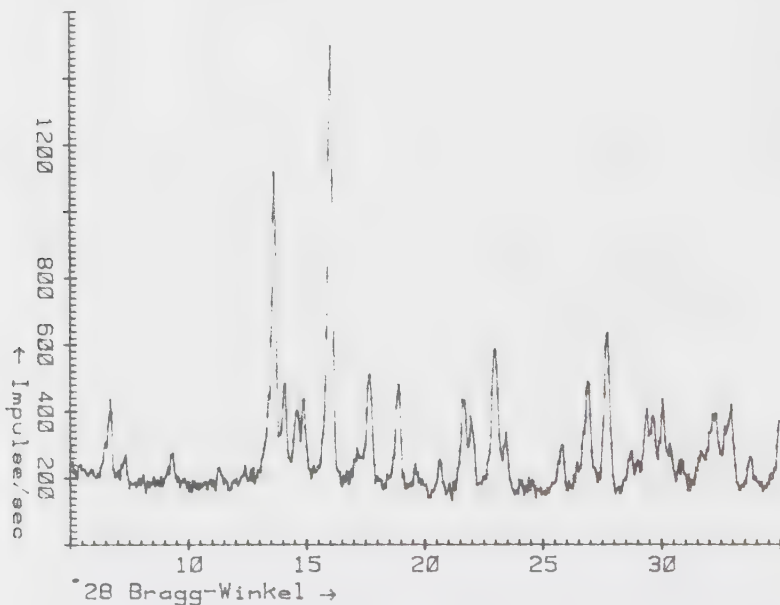


Abb. 79a RD von BA-Hydrat

Bei dem im Probenträger auf 378 K (105 °C) getemperten Hydrat zeigt sich ein vollkommen verändertes Bild des entstandenen Anhydrides. Es erinnert an eine Teilamorphisierung der Substanz und läßt beim weiteren Erhitzen auf 423 K (150 °C) das Interferenzmuster der I β -Form deutlich werden (Abb. 79b, c) → vgl. mit Abb. 51, S. 108).

Die Peakhöhen unterscheiden sich zwar, die Reflexe treten jedoch bei den gleichen Braggwinkeln wie bei der I β -Modifikation auf.

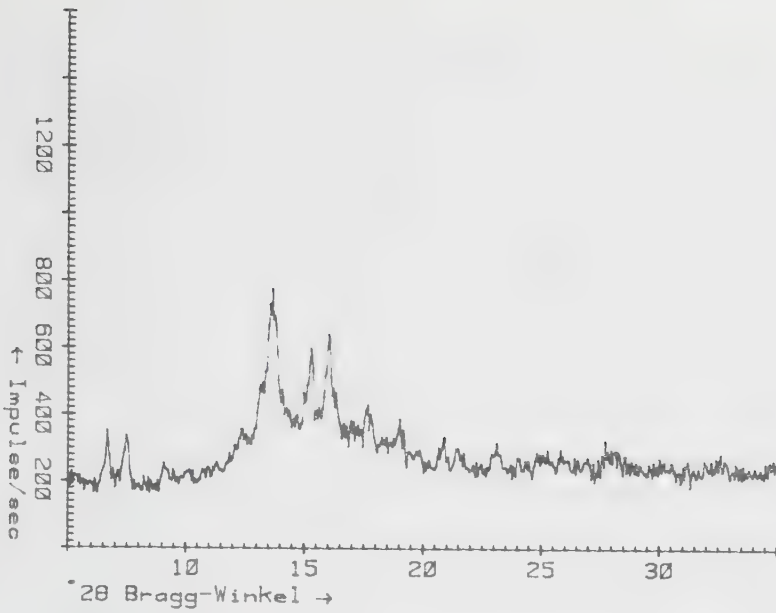


Abb. 79b RD von BA-Anhydrat (378 K (105 °C))

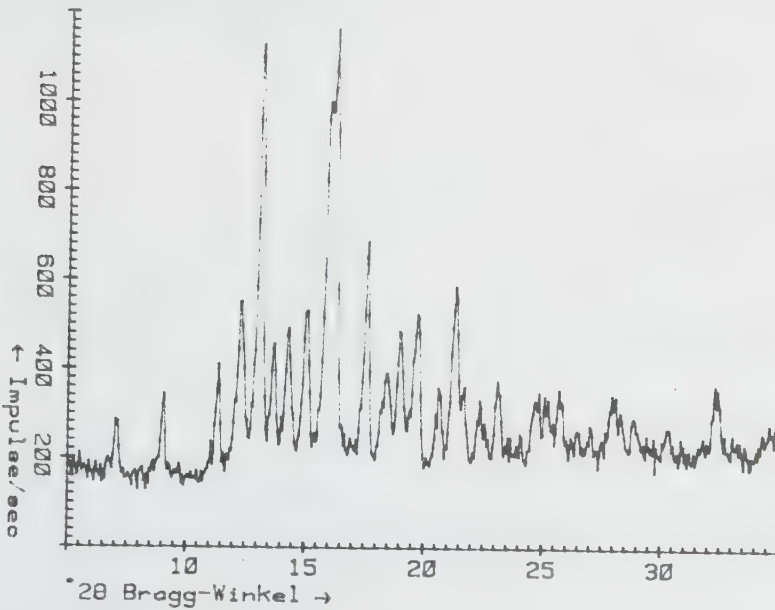


Abb. 79c RD von BA-Anhydrat (423 K (150 °C))

Schließlich wurde auch ein IR-Spektrum des Hydrates aufgenommen (Abb. 80). Im Vergleich zu den IR-Spektren der Ausgangssubstanz H und der β -Modifikation (s. Abb. 71a und 71c, S. 124) fällt hier wieder eine deutliche Veränderung im Bereich der OH-Valenzschwingungsbanden auf.



3.9.2.3. Überlegungen zur Hydratbildung bei BA

Die bei Lagerung in Wasser oder Naßmahlung auftretende Hydratbildung konnte – wie erwähnt – nur bei reinen Modifikationen oder dem amorphen Sprühprodukt beobachtet werden. Sobald Modifikation II – wie beim Ausgangsmaterial H oder den Fällungsprodukten – in der Probe mit vorlag, war die Ausbildung des Hydrates nicht nachzuweisen. Aus all diesen Befunden kann man ein grundsätzlich unterschiedliches Verhalten der BA-Formen gegenüber Wasser ableiten:

- 1) Zur Herstellung eines die Modifikation II enthaltenen Ausgangsmaterials ist grundsätzlich eine Ausfällung in Wasser erforderlich. Dieses Produkt bindet reversibel ca. 1,7 % Wasser.
Durch das Vorliegen dieser Modifikation II enthaltenen Substanz wird die Ausbildung des BA-Monohydrates verhindert.
- 2) Die Kristallmodifikationen I α und I β (ohne II) sind in reiner Form nur in Abwesenheit von Wasser darstellbar.
- 3) Die reine I α -Modifikation ist nicht zur Aufnahme von Hydratwasser befähigt.
- 4) Das Sprühprodukt oder die I α -Modifikation führen erst nach tribomechanischer, lyotroper oder thermischer (amorphes BA) Überführung in die I β -Form in Wasser zu einer Hydratbildung.
- 5) Allein die reine I β -Modifikation ist zur Bildung des Monohydrates befähigt.

Hält man sich die vergleichsweise problemlose Hydratbildung bei den strukturähnlichen Fluprednylidenacetat- und Dexamethasonacetat-Handelsprodukten vor Augen (16,19,53), so wird deutlich, daß die Stellung des 16-Substituenten am Steroidgerüst

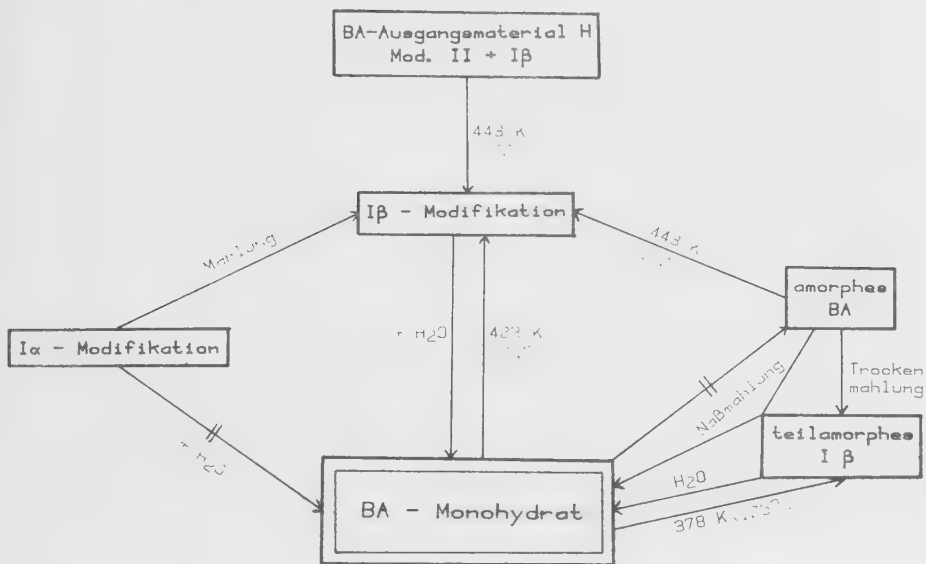
einen ganz entscheidenden Einfluß auf das Verhalten der Substanzen gegenüber Wasser hat. Kristallwasser kann im Falle der α -Stellung einer Methylgruppe (Dexamethasonacetat) bzw. der äquatorialen Stellung der Methylengruppe (Fluprednylidenacetat) relativ leicht in den Kristall eingebaut werden. Im Fall des BA mit einer β -ständigen Methylgruppe ist dieser Wassereinbau offensichtlich nicht ohne weiteres möglich.

Daß bisher in der Literatur über die Pseudopolymorphie von BA noch nicht berichtet wurde, ist wohl dem Umstand zuzuschreiben, daß die zur Hydratbildung befähigten reinen Formen ($I\alpha$, $I\beta$, amorphes) nicht rein dargestellt oder hinreichend genau untersucht wurden.

Das Hydrat zeigte eine gute Stabilität in trockenem und wässrigem Milieu, was es für einen Einsatz in pharmazeutischen Kristallsuspensionen geeignet erscheinen ließ. Da es primär in Form langer Kristallnadeln anfiel, mußte es für diese Darreichungsform unbedingt zerkleinert werden. Dabei zeigte sich die Naßmahlung der Trockenmahlung deutlich überlegen. In beiden Fällen war wohl die gewünschte Korngröße problemlos zu erreichen, die trockene Scherbelastung führte jedoch zu teilweise Kristallwasserverlust, der zwar bei Einbringen in H_2O reversibel ausgeglichen wurde, aber auch durch erneute Nadelbildung zu Kristallwachstum führte.

Die Möglichkeiten bei BA zu einem Hydrat zu gelangen sind im folgenden Schema zusammenfassend dargestellt:

Schema 4: Gewinnung und Veränderung von BA-Monohydrat



3.10. Ausgewählte vergleichende Untersuchungen an Dexamethasonacetat

Wie bereits in der Literatur beschrieben (19,23) und durch eigene Versuche bestätigt, erfolgt die Hydratbildung bei dem zu BA stereoisomeren Dexamethasonacetat ohne besondere Vorbehandlung der Substanz durch Suspendieren in Wasser. Das dabei spontan innerhalb weniger Minuten entstehende Hydrat ist allerdings gegen Trocknungsprozesse wesentlich empfindlicher. Es verliert sein Kristallwasser bereits bei 320 K (47 °C) (Abb. 81), was auch in der Literatur berichtet wird (23).

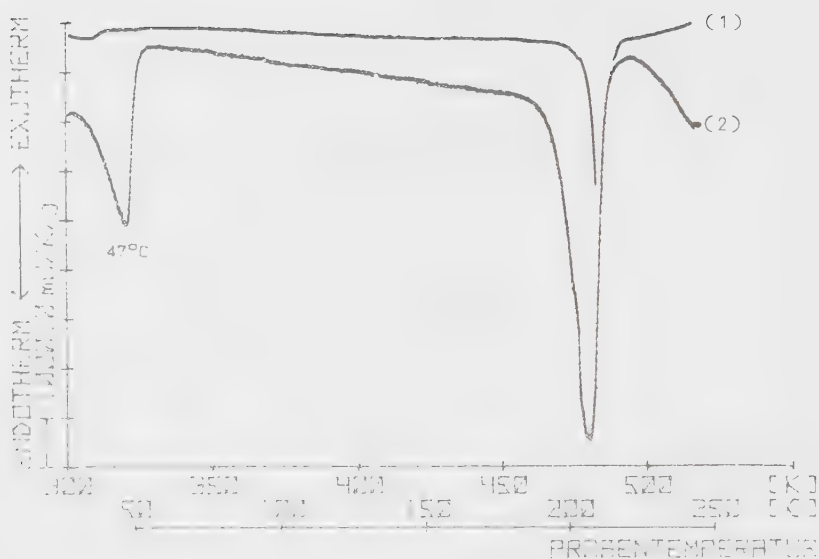


Abb. 81 DTA-Kurven von Dexamethasonacetat

1) Ausgangssubstanz

2) Hydrat

Es fällt hierbei ferner auf, daß sowohl beim Ausgangsmaterial als auch beim Hydrat - nach dem H_2O -Peak - bis zum Schmelzpeak (488 K (215 °C)) im Gegensatz zum BA keine Auslenkungen festzustellen sind. Das zur Verfügung stehende Dexamethasonacetat stellt die literaturbeschriebene Modifikation II dar (53,91). Es sollte im folgenden vorwiegend mit Modifikation I β des BA verglichen werden, die alleine ja zur Ausbildung des Hydrates befähigt war. Der Schmelzpeak beider Substanzen ist mit ca. 488 - 493 K (215 - 220 °C) annähernd gleich (Abb. 13 und 25). Röntgendiffraktometrische Untersuchungen ergaben für Dexamethasonacetat ein völlig anderes Reflexmuster (Abb. 82, vgl. Abb. 51). Auch das IR-Spektrum unterschied sich deutlich von dem der I β -Form von BA. Schließlich bewiesen auch HPLC-Untersuchungen, daß sich beide Substanzen mühelos trennen ließen.

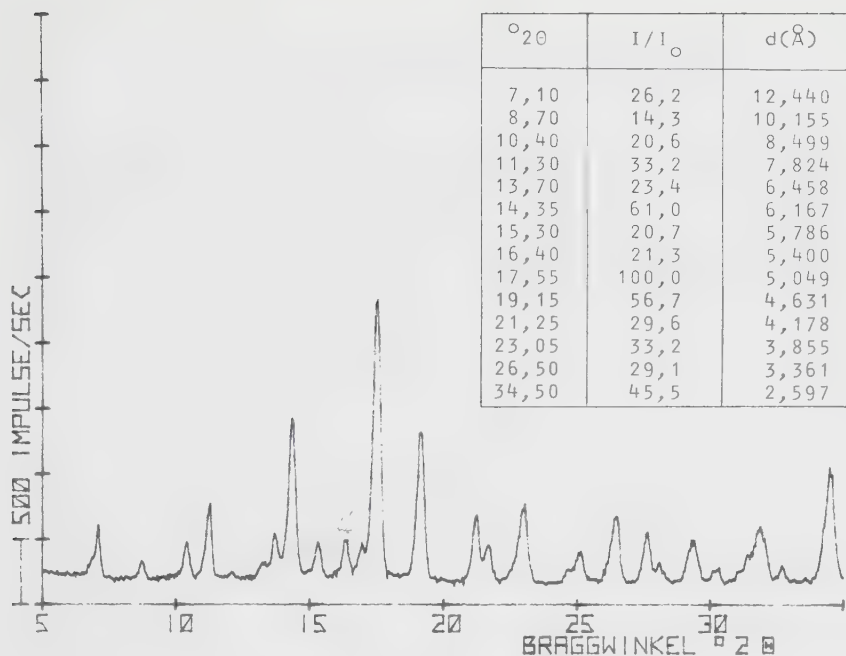


Abb. 82 RD von Dexamethasonacetat

Weitere analog zu BA ausgeführte Untersuchungen, wie Tempern der Substanz bei 463 K (190 °C) oder Trockenmahlung in der Mikroschnellmühle, erwiesen Dexamethasonacetat als ein unter diesen Bedingungen stabiles Produkt. Diese Stabilität des Dexamethasonacetats ist - trotz sterischer Unterschiede - der von BA-IB vergleichbar. Da beide Substanzen rasch ein Hydrat ausbilden, ist bei ihrem Einsatz in wässrigen Systemen die Verwendung der kristallwasserhaltigen Form angezeigt.

4. BA-Suspensionen / Galenische Aspekte

Betrachtungen über das Vorkommen und die Herstellung verschiedener Modifikationen sind bei der Verarbeitung polymorpher Substanzen zu Arzneiformen von grundlegender Bedeutung. Die Kenntnis der physikalischen Stabilität einzelner Kristallformen ist für den pharmazeutischen Technologen unerlässlich und kann auch bei der Auswahl der für eine Therapie geeignetsten Modifikation sehr hilfreich sein.

Die Beachtung dieses Gesichtspunktes allein führt noch nicht zu einer optimalen Applikationsform. Mitunter können therapeutisch günstige, metastabile Zustände erst durch geeignete galenische Maßnahmen - wie z.B. die Sprüheinbettung in makromolekulare Hilfsstoffe (5,90) - in eine haltbare Arzneiform überführt werden.

Das Ziel der experimentellen Arbeiten mußte in der Entwicklung einer therapiegerechten stabilen Kristallsuspension liegen. Dazu müssen alle Anforderungen, die für Suspensionen zur parenteralen Applikation nötig sind, beachtet werden:

1. Einsatz des Wirkstoffes mit definierten Teilchengrößen ($< 20 \mu\text{m}$) (96).
2. Zusatz von Suspensionsstabilisatoren - Makromoleküle.
3. Eventuell Einsatz von Tensiden in geringer Menge zur Verbesserung der Benetzungsfähigkeit stark lipophiler Wirkstoffe.
4. Zusatz von isotonisierenden Hilfsstoffen (NaCl) und Puffersalzen.
5. Zusatz kompatibler Konservierungsstoffe.

4.1. Auswahl von Hilfsstoffen

Hilfsstoffe zur Verbesserung der Dispergierbarkeit eines Arzneistoffes in Suspensionen (106,107,108,109), zur Stabilisierung (106,108,110,111) dieser Arzneiform und zur Verhinderung eines Kristallwachstums (41,43,44) in diesen Systemen werden in der Literatur immer wieder angeführt.

Die Auswahl an Dispersionsmitteln und anderen Hilfsstoffen kann aufgrund der zu fordernden geringen Toxizität und Reizwirkung nur aus einem relativ kleinen Spektrum getroffen werden.

Eine gute Benetzung und damit homogene Verteilung der hydrophoben Kristalle sollte mit einem geeigneten Netzmittel erreicht werden. Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurde das allgemein gebräuchliche und im DAB 8 als Monographie aufgeführte Polysorbat 80 (51,52,76) eingesetzt.

Der Einsatz von Tensiden in Injektabilia ist nicht unproblematisch, da nur kleinste Mengen zugesetzt werden dürfen. Bei höheren Konzentrationen findet eine zumindest teilweise Solubilisation statt, die im Laufe der Lagerung zu Rekristallisationserscheinungen und Kristallwachstum führen kann.

Ganz allgemein ist es bei dieser Arzneiform zweckmäßig, durch Zusatz bestimmter makromolekularer Hilfsstoffe eine Kristallisationsinhibition zu erreichen. Da diese Substanzen gleichzeitig eine Viskositätserhöhung bewirken, kann man auch eine Verringerung der Sedimentationsgeschwindigkeit und in gewissen Fällen eine bessere Redispergierbarkeit erzielen.

Kolloide, die dafür besonders geeignet erscheinen, sind die Celluloseether (5,16,48) und Polyvinylpyrrolidon (PVP) (5,41,44). Um die physiologische Verträglichkeit der Suspensionen nicht zu beeinträchtigen, wurde aus diesen Substanzgruppen jeweils ein Polymeres mit möglichst niedrigem Molekulargewicht ausgewählt. Als PVP-Typ wurde Kollidon® 17 (MG ~11500) als Cellu-

loseether Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) Methocel® E5 prem (MG $\sim$ 10000) eingesetzt.

Berichte, nach denen ein Zusatz von Zuckern die Stabilität von Steroidlösungen erhöht (112) oder daß die Löslichkeit von Betamethason durch eine Schmelzeinbettung in Polyethylenglykol 6000 verändert wird (113), führten zu der Frage, ob man durch die gezielte Auflösung einer Schmelzeinbettung von BA zu einer Kristallsuspension mit günstigen Eigenschaften gelangen kann. Hierbei kamen in einer Screening-Versuchsreihe folgende physiologisch unbedenklichen Hilfsstoffe zum Einsatz:

1. Adipinsäure
2. Bernsteinsäure
3. Mannitol
4. Polyoxyethylen-Polyoxypropylen (Pluronic® F 68)
5. Polyethylenglykol 6000
6. Sorbitol

Die folgenden Versuche wurden noch ohne Konservierungs- und Isotonisierungsmittel durchgeführt.

4.2. Untersuchungen zur Eignung von BA-Schmelzeinbettungen

Schmelzeinbettungen von Wirkstoffen werden normalerweise zur Verbesserung der Auflösungseigenschaften schwerlöslicher Arzneistoffe eingesetzt (114). Bei den hier durchgeführten Untersuchungen interessierte jedoch die Frage, ob aus einer sogenannten festen Lösung (solid solution), nach dem Auflösen des Hilfsstoffes, der Arzneistoff in einer bestimmten Modifikation und feiner Teilchengröße reproduzierbar anfällt.

Die Versuchsreihen dieses Screeningtests wurden auf einem selbstgebauten Aluminiumheizblock mit sechs zylindrischen Vertiefungen ($\varnothing$ 16 mm, Tiefe 10 mm) für die Probenaufnahme und einer Bohrung für das Kontrollthermometer ausgeführt. Die Aufheizgeschwindigkeit des Blockes auf einer Heizplatte betrug in allen Fällen ca. 5 K/min. Zur Vermeidung oxidativer Zersetzung beim Schmelz- und Erstarrungsvorgang wurde unter Stickstoffspülung gearbeitet. Bei allen Versuchen wurden 100 mg BA eingesetzt und das Verhältnis der zugesetzten sechs Hilfsstoffe im Bereich von 1 : 1 bis 1 : 10 variiert. Die dargestellten Schmelzeinbettungen enthielten BA teils in gelöster, teils in feindispersierter Form.

Bei der Einarbeitung der Schmelzprodukte in Wasser mittels eines Reagenzglasschüttelgerätes (ca. 30 Hz) fielen größer kristalline Nadeln (zum Teil $> 200\mu\text{m}$), die zu Agglomeration neigten, aus. Dieses Verfahren erwies sich somit für die Gewinnung des Injektionspräparates als nicht geeignet:

Bei der Kombination von Hilfsstoffen aus der o.g. Reihe ergaben sich allerdings für die quaternäre Kombination BA/Adipinsäure/Bernsteinsäure/Mannitol = 1/1/1/1 zunächst in der wäßrigen Suspension kleinere Teilchen. Es zeigte sich jedoch auch hier ein massives Kristallwachstum in der wäßrigen Suspension, das durch die Ausbildung des Hydrates bedingt war.

Weitere systematische Untersuchungen zur Gewinnung besser geeigneter Schmelzeinbettungen erschienen wenig erfolgversprechend, da sie u.a. den Zusatz weiterer, prinzipiell unerwünschter Zusatzstoffe erfordern würden.

4.3. Netzmittel- und Kolloideinfluß auf die Qualität von BA-Suspensionen

Die Suche nach stabilen BA-Formen für den Einsatz in Kristallsuspensionen hatte ergeben, daß sowohl das Modifikationsgemisch der Ausgangssubstanz H, als auch das neu aufgefundene BA-Hydrat die günstigsten Prognosen für die Einarbeitung in wässrige Systeme erwarten ließen.

Im Rahmen dieser Arbeit mußte nun die Eignung eines üblichen Netzmittels, wie z.B. Polysorbat 80, geprüft werden. Darüber hinaus wurde die Verhinderung des Kristallwachstums durch die makromolekularen Hilfsstoffe Kollidon[®] 17 (PVP 17) und Methocel[®] E5 (HPMC E5) untersucht.

4.3.1. Zusatz von Polysorbat 80

In Vorversuchen wurde nachgewiesen, daß bei allen Kristallformen eine 0,1proz. Lösung von Polysorbat 80 für eine gute Benetzung ausreichend war. Die Basisrezeptur für die Versuche war:

BA-Form	0,6 %
Polysorbat 80	0,1 %
Wasser	ad 100,0 %

4.3.1.1. Prüfung der Suspensionen

Von den stabilen BA-Kristallformen kamen folgende zum Einsatz:

- | |
|-------------------------------------|
| (1) BA-Handelsprodukt H |
| (2) BA-Hydrat |
| (3) BA-IB-Modifikation |
| (4) Amorphes Sprühtrocknungsprodukt |

Zur Herstellung der Suspensionen wurde folgendermaßen vorgegangen: Zunächst wurden alle Proben in geeigneter Weise auf die gewünschte Ausgangskorngröße von weniger als 20 µm zerkleinert. Lediglich im Falle des Sprühtrocknungsproduktes (4) mußte hierzu keine Mahlung mehr durchgeführt werden. Die Iß-Modifikation (3) wurde in der RETSCH-Mikroschnellmühle 5 Minuten trockengemahlen. BA-Ausgangsmaterial H (1) und BA-Hydrat (2) wurden in der RETSCH-Mikroschnellmühle 10 Minuten naßgemahlen.

Von den Proben (3) und (4) wurden je 30 mg in braune Gläschen eingewogen, mit 5 ml 0,1proz. Polysorbat 80-Lösung versetzt und dicht verschlossen. Bei den naßgemahlenen Proben (1) und (2) wurde der vor dem Mahlprozeß genau eingewogene Feststoffanteil (150 mg) als Filterrückstand quantitativ mit 25 ml 0,1proz. Polysorbat 80-Lösung in braune Fläschchen gespült und diese dicht verschlossen.

Auf diese Weise wurden Suspensionen mit einem therapeutisch zweckmäßigen Feststoffanteil von 6 mg BA pro ml gewonnen. Bei allen Proben war eine absinkende Sedimentation zu beobachten, die zu einem mehr oder weniger schlecht aufschüttelbaren Bodensatz führte. Nach Redispergierung des Sediments durch manuelles Schütteln wurden die Suspensionen auf Erscheinungsbild und Kristallgrößenveränderungen hin überprüft. Die Qualität der Suspensionen wurde polarisationsmikroskopisch hinsichtlich Homogenität und Agglomerationsneigung bei 100- bis 200-facher Vergrößerung beurteilt. Die Teilchengrößenbestimmung erfolgte mit Hilfe eines Okularmikrometers bei 400-facher Vergrößerung. Da für die Qualität von Kristallsuspensionen vor allem eine Limitierung der maximalen Teilchengröße wichtig ist, wurden in Anlehnung an eine Methode von LUKAS (115) die 10 größten Teilchen - jeweils in der Längsachse gemessen - einer Probe bestimmt.

Die folgende Tabelle gibt jeweils die Mittelwerte in µm an.

Tab. 4 Teilchengrößenbestimmung von BA-Proben in 0,1proz. Tween[®] 80-Lösung
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

Lagerungszeit BA-Probe	nach Herstellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	2 Mon (μm)	1/2 Jahr (μm)	Redispersier- barkeit	Homogenität
BA-H (1) naßgemahlen	11,2	32,4	39,9	42,5	42,1	49,5	58	schlecht	mäßig
BA-Hydrat (2) naßgemahlen	11,8	14,1	12,7	14,1	12,7	14,7	--	mäßig	mäßig
BA-I β (3) trockengemahlen	17,2	98,0	--	--	112,0	--	126,2	schlecht	schlecht
BA-amorph (4) sprühgetrocknet	18,4	56,4	--	--	58,0	--	--	schlecht	schlecht

Bei der Betrachtung der Ergebnisse fällt auf, daß nur beim BA-Hydrat praktisch kein Kristallwachstum auftrat. Die anderen Proben zeigten bereits nach einem Tag eine deutliche Zunahme der Kristallgröße, die sich auch nach längerer Lagerung nicht mehr wesentlich veränderte. Die nicht naßgemahlenen Produkte (3) und (4) wiesen das stärkste Wachstum auf und bildeten teilweise lange Nadeln.

Stichprobenweise durchgeführte DT-Analysen der filtrierten und gewaschenen Rückstände ergaben, daß hier die Ausbildung des Hydrates erfolgte, die schon nach einem Tag weitgehend abgeschlossen war. In diesen Fällen würde eine Naßmahlung nach der Hydratbildung wieder zu stabilen Suspensionen führen.

Bei Produkt (1) konnte diese Hydratbildung nicht festgestellt werden, wenngleich ein, im Vergleich zur Iß-Modifikation mäßiges, Partikelwachstum auftrat.

Aufgrund dieser Untersuchungen wurde bewiesen, daß 0,1 % Polysorbat 80 keine Kristallgrößenzunahme beim BA-Hydrat bewirkt. Die bei den Präparaten (3) und (4) festgestellten Wachstumserscheinungen sind nicht auf den Tensideinfluß zurückzuführen, da in Vorversuchen bereits der Zusammenhang zwischen Hydratbildung und Kristallgrößenveränderung festgestellt worden war. Da bei Probe (1) keine Hydratbildung, aber dennoch ein Wachstum stattgefunden hat, mußte die Einwirkung von Wasser ohne Tensid geprüft werden.

4.3.1.2. Vergleich mit einer tensidfreien BA-H-Suspension

Die unter den eben angegebenen Bedingungen hergestellte tensidfreie wässrige Suspension war mehr oder weniger inhomogen und zeigte Neigung zur Agglomeration. Sedimentation wurde beobachtet. Die Redispergierung bildete keine Schwierigkeiten.

Im Vergleich zu der tensidhaltigen Suspension wurde auch hier ein rasches und ausgeprägtes Kristallwachstum festgestellt. Die solubilisierenden Eigenschaften von Polysorbat 80 führen also zu keiner stärkeren Beeinflussung der Kristallgröße.

Aus allen Untersuchungen geht hervor, daß man im Hinblick auf eine Kristallgrößenlimitierung unter folgenden Voraussetzungen günstige BA-Basis suspensionen erhalten kann:

- 1) Einsatz des naßgemahlenen Hydrates
- 2) Zusatz von 0,1 % Tensid (Polysorbat 80)

Zusätzlich wird die Benetzung der Partikeln und damit die Homogenität der Suspension verbessert.

4.3.2. Zusatz von PVP und HPMC

Zur stabilisierenden Viskositätserhöhung in Suspensionen ist der Einsatz von Kolloiden durchaus gebräuchlich (52,106,111). Der kristallwachstumshemmende Einfluß der Kolloide PVP und HPMC wurde in der Literatur schon öfter beschrieben (5,16,41,43,44,48). Dabei können schon sehr geringe Mengen von $< 0,5 \%$ das Kristallwachstum verzögern (41) bzw. verhindern.

Für die ausgewählten Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit sollten mit Kollidon[®] 17 (PVP 17) und Methocel[®] E5 (HPMC E5) Substanzen mit relativ niedrigem Molekulargewicht zum Einsatz kommen. Da diese Kolloide in Wasser bereits die Oberflächenspannung senken, konnte der Polysorbat 80-Anteil in allen Fällen auf $0,05 \%$ reduziert werden.

Das Verhältnis von Wirkstoff zu Kolloid wurde zwischen 1 : 1 und 1 : 5 variiert. Geringere Hilfsstoffmengen hatten einen zu geringen suspensionsstabilisierenden Effekt, größere Mengen sollten aus physiologischen Gründen nicht zum Einsatz kommen. Als Entscheidungskriterium wurde die problemlose Redispergierung der Suspension nach einem Tag angesehen. Am günstigsten erwiesen sich die Relationen von

1 : 4 für BA : PVP 17 und

1 : 2 für BA : HPMC E5,

die bei den folgenden Versuchen zum Einsatz kamen.

4.3.2.1. Kristallwachstum in PVP 17-haltigen Präparaten

Die Zusammensetzung der Suspensionen lautete im einzelnen:

BA-Form	0,6 ‰
Polysorbat 80	0,05 ‰
PVP 17	2,4 ‰
Wasser	ad 100,0 ‰

Der Wirkstoff wurde in Form von

- | |
|--|
| (1) BA-Ausgangsmaterial H
(2) BA-Hydrat
(3) BA Iß-Modifikation |
|--|

In der unter 4.3.1.1 beschriebenen Weise zu Suspensionen verarbeitet. Es wurde eine absinkende Sedimentation beobachtet. Die Redispergierung gelang im Vergleich zu den Suspensionen mit 0,1proz. kolloidfreiem Polysorbat 80 in allen Fällen besser. Optimal war sie im Fall der Suspension mit naßgemahlenem Hydrat; auch die beiden anderen Proben konnten noch ohne weiteres gut aufgeschüttelt werden. Die mikroskopische Betrachtung der Präparate führte bezüglich der Kristallwachstumsanalysen zu folgendem Ergebnis:

Tab. 5 Teilchengrößenbestimmung von BA-Proben in
PVP 17-haltigen Suspensionen
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

BA-Probe \ Lagerungszeit	nach Herstellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	2 Mon (μm)	1/2 Jahr (μm)	Redisper- gierbarkeit	Homogenität
BA-H (1) naßgemahlen	11,5	42,1	55,0	50	56,2	55	60,2	(gut)	mäßig
BA-Hydrat (2) naßgemahlen	11,8	12,9	12,2	14,1	13,4	13,2	--	gut	gut
BA-I: (3) trockengemahlen	21,8	98,0	112,5	--	--	--	145,2	(gut)	schlecht

Vergleicht man die Ergebnisse mit denen, die für Suspensionen mit 0,1proz. Polysorbat 80-Lösung erhalten wurden (s. S. 148), so zeigt sich überraschenderweise, daß bezüglich einer Kristallwachstumsinhibierung kein Vorteil feststellbar war. Weder das Kristallwachstum der naßgemahlenden Ausgangssubstanz H (1) noch die mit starkem Nadelwachstum verbundene Hydratbildung aus der Iß-Modifikation (3) konnte durch den Zusatz von Kollidon® 17 verhindert werden. Lediglich das naßgemahlene Hydrat war auch in diesem Fall nicht von Veränderungen betroffen.

PVP 17 ist als Kolloid in der hier eingesetzten Konzentration und bei der angewandten Verarbeitungstechnik nur im Falle des Hydrates befähigt, eine Verbesserung der Suspensionsqualität zu bewirken; dies allerdings nur im Hinblick auf die Redispergierbarkeit des Steroids.

4.3.2.2. Kristallwachstum in HPMC E5-haltigen Präparaten

Schließlich wurde noch der Einfluß von HPMC, die bekanntlich schon in geringeren Konzentrationen zu stärkeren Viskositäts-erhöhungen führt, auf die Suspensionsqualität untersucht. Zur Prüfung kamen Präparate folgender Zusammensetzung:

BA-Form	0,6 %
Polysorbat 80	0,05 %
HPMC E5	1,2 %
Wasser	ad 100,0 %

Es wurden die gleichen BA-Ausgangssubstanzen (1-3) wie bei den PVP-haltigen Suspensionen verwendet.

Auch hier traten bei den Suspensionen, die mit naßgemahlener Ausgangssubstanz bzw. dem Hydrat gewonnen wurden, absinkende Sedimentationen auf. Im Falle der Präparation mit der trocken gemahlenden 1 β -Form kam es zu keiner Sedimentation. Stattdessen fand hier eine thixotrope Viskositätserhöhung bis zu einer gel-artigen Konsistenz statt. Die Redispergierung der Sedimente war in den beiden ersten Präparaten (1) und (2) mit der Aufschüt-telbarkeit der PVP-Suspensionen vergleichbar bzw. geringfügig besser.

Die mikroskopischen Kristallgrößenanalysen ergaben das in Tabelle 6 aufgeführte Resultat:

Tab. 6 Teilchengrößenbestimmung von BA-Proben in
HPMC E5-haltigen Suspensionen
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

Lagerungszeit BA-Probe	nach Herstellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	2 Mon (μm)	1/2 Jahr (μm)	Redispersierbarkeit	Homogenität
BA-H (1) naßgemahlen	10,7	32,4	41,4	--	--	--	57,5	(gut)	gut
BA-Hydrat (2) naßgemahlen	12,5	13,2	13,6	13,2	13,4	13,2	--	gut	gut
BA-Iß (3) trockengemahlen	19,3	26,1	42,5	--	--	45,5	50,3	"Gel"	

Vergleicht man die Teilchengrößenentwicklung mit den Ergebnissen der vorher beschriebenen Suspensionen (s. 4.3.1.1 und 4.3.2.1), so sind für das naßgemahlene Ausgangsmaterial H (1) wiederum die Partikelvergrößerung und für das naßgemahlene Hydrat (2) die Teilchengrößenkonstanz festzustellen.

Das Teilchenwachstum der Iß-Modifikation (3) konnte dagegen signifikant bei einem kleineren Teilchengrößenspektrum zum Stillstand gebracht werden. Das mikroskopische Bild war dabei allerdings auch hier - wie bei den anderen Zubereitungen mit der Iß-Form - von einem Nadelgeflecht gekennzeichnet. Die resultierende BA-Hydratform konnte hier ebenso thermoanalytisch identifiziert werden.

Somit war es auch nicht möglich, mittels der HPMC und der beschriebenen Technik das Wachstum völlig einzudämmen. Trotzdem scheint HPMC in Form des Methocel® E5 insgesamt gesehen für

den Einsatz in BA-Kristallsuspensionen besser geeignet zu sein als PVP in Form des Kollidon[®] 17. Ähnliche Beobachtungen zum Vergleich der beiden makromolekularen Hilfsstoffe HPMC und PVP machte DÖLLE (5), der feststellen konnte, daß die Rekristallisation von Digoxin aus Sprüheinbettungen durch HPMC wesentlich wirksamer inhibiert wird als durch PVP.

Eine abschließende Beurteilung des Kolloideinflusses kann jedoch erst erfolgen, wenn auch die Lagerung bei höherer Temperatur untersucht wird. Entsprechende Versuche werden im folgenden Kapitel beschrieben.

Zusammenfassung

- 1) BA-Hydrat zeigt nach der Naßmahlung in allen Suspensionsgrundlagen praktisch kein Kristallwachstum, so daß es am besten für die Herstellung von Kristallsuspensionen ad injectionem geeignet ist.
- 2) Das Handelsprodukt H erfährt im wässrigen Milieu zwar keine Umwandlung in ein Hydrat; ein Kristallwachstum tritt indessen – auch in Anwesenheit von Kolloiden – auf.
- 3) Die reine I β -Modifikation erfährt eine Umwandlung in BA-Hydrat unter KristallgröÙenzunahme.
- 4) Dieses Wachstum kann durch Kollidon[®] 17 nicht und durch Methocel[®] E5 zwar nicht vollständig, aber signifikant verringert werden.
- 5) Die Redispergierbarkeit und Homogenität der Suspensionen werden sowohl durch Tensidzusatz als auch in noch stärkerem Maße durch PVP und HPMC verbessert.
- 6) HPMC zeigt gegenüber PVP Vorteile hinsichtlich der Dispersität des Steroids.

Es sollte nun geprüft werden, ob BA-Hydrat in den angegebenen Suspensionsgrundlagen auch unter thermischer Belastung stabil bleiben würde, da derartige Prüfungen im Rahmen der Stabilitätsuntersuchungen unerlässlich sind.

4.3.3. Kristallwachstum von BA-Hydrat bei erhöhter Lagertemperatur

Für diese Versuchsreihe wurden von den beschriebenen BA-Hydrat-Suspensionen 10 ml in dicht verschlossenen Gläsern (25 ml) bei 318 K (45 °C) im "Tropenschränk" gelagert.

Derartige Lagerbedingungen haben nach WALTER auch einen Einfluß auf das Partikelwachstum in Suspensionen (117). Die Teilchengrößenbestimmungen erfolgten in Proben, die bis zu 3 Monate gelagert wurden. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

Tab. 7 Teilchengrößenbestimmung von BA-Hydrat-Suspensionen bei höherer Temperatur (318 K / 45 °C)
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

Lagerungszeit BA-Probe	nach Herstellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	2 Mon (μm)	3 Mon (μm)	Redispergier- barkeit	Homogenität
BA-Hydrat in H_2O	11,8	14,8	21,4	19,8	>200 μ	--	--	mäßig	schlecht
BA-Hydrat in Polysorbat 80-Lsg.	11,8	14,3	13,4	>200 μ	--	--	--	mäßig	schlecht
BA-Hydrat in PVP 17-Lösung (+ Polys. 80)	11,8	13,6	13,2	13,2	98,2	155,3	159,6	mäßig	schlecht
BA-Hydrat in HPMC E5-Lösung (+ Polys. 80)	12,5	13,2	12,5	13,4	15,5	17,1	16,4	gut	gut

Unter den geschilderten Lagerungsbedingungen war ein deutlicher Einfluß des Hilfsstoffzusatzes auf die Redispergierbarkeit, die Agglomerationsneigung und die Partikelgrößen der BA-Hydratsuspensionen zu beobachten. Weder bei Suspendierung in reinem Wasser noch bei Lagerung in 0,1proz. Polysorbat 80- oder einer Kollidon® 17-haltigen Lösung konnte eine Bildung der Hydratnadeln wirksam verhindert werden. Wenngleich PVP diese Erscheinung verzögerte, war es aber nicht in der Lage, das Kristallnadelwachstum entscheidend zu inhibieren.

Als Grund dafür kann die erhöhte Löslichkeit des BA-Hydrates bei 318 K (45 °C) angesehen werden. Wie in Kapitel 5.2 angegeben, wurde sie mit 6,97 mg% gegenüber 4,07 mg% bei 295 K (22 °C) bestimmt. Bei der für die Kristallgrößenbestimmung notwendigen Abkühlung auf Raumtemperatur konnten sich in diesen Fällen wieder die Kristallnadeln des Hydrates ausbilden.

Bezüglich Redispersierbarkeit und Homogenität zeigten dagegen Suspensionen in Methocel® E5-haltigen Lösungen das Erscheinungsbild wie nach der Herstellung. Diese Präparate ließen über den Beobachtungszeitraum von 3 Monaten auch kein signifikantes Nachwachstum erkennen.

Somit kann man von den nach der angegebenen Herstellungstechnik gefertigten Suspensionen nur diejenige mit Hydroxypropylmethylcellulosezusatz empfehlen. Bei der Weiterverarbeitung zu einer vollständigen Kristallsuspensionsrezeptur wurde dies dann berücksichtigt (s. 6.3). Vor einer abschließenden Rezepturentwicklung mußte auch geprüft werden, wie sich die Anwendung anderer verfahrenstechnischer Maßnahmen auf die Suspensionsqualität auswirkte.

4.4. Andere verfahrenstechnische Maßnahmen zur Entwicklung einer parenteral applizierbaren BA-Kristallsuspension

Wenngleich für den Einsatz von BA-Hydrat in Kristallsuspensionen die Herstellungstechnik: Naßmahlung + Dispergierung in HPMC E5-Lösung als optimal gelten konnte, so wäre es doch denkbar, daß man durch geeignete verfahrenstechnische Maßnahmen in einer eleganteren Weise zu guten Kristallsuspensionen – auch mit den anderen BA-Formen – gelangen könnte.

Bei genauer Beobachtung des Fällungsprozesses von BA-Lösungen in Wasser zeigte sich, daß zu Beginn des Zutropfens (1 ml/min.) das spontan gefällte Steroid an der Eintropfstelle noch sofort in Lösung ging. Bei weiterer Zugabe entstand zunächst eine kolloidale Lösung und anschließend - durch stärkere Trübung erkennbar - die Fällung des kristallinen Produktes.

Bei der Ausfällung von methanolischen Digoxin-Lösungen in wässrigen Kolloidsystemen beobachtete z.B. DÖLLE (5) eine verzögerte Kristallisation des Arzneistoffes im Vergleich zum Einbringen der Lösung in reines Wasser. Auch die verzögerte Kristallisation von Wirkstoffen aus Kolloidsprüheinbettungen wurde von verschiedenen Autoren berichtet (5,48,116). Durch Zusatz makromolekularer Hilfsstoffe zur wässrigen Phase sollte bei BA geprüft werden, ob die Kristallisation u.U. inhibiert werden konnte.

4.4.1. Ausfällung von BA in Kolloidlösungen

Für die Experimente wurden jeweils 0,3 g BA in 4,5 ml Aceton gelöst und in 50 ml 1,2proz. HPMC E5- bzw. 2,4proz. PVP 17-Lösung bei ca. 329 K (56 °C) ausgefällt. Die bei den früher beschriebenen Versuchen gewählte Fällungstemperatur von 353 - 363 K (80 - 90 °C) konnte nicht beibehalten werden, weil sich die Celluloseether-Lösungen der HPMC bekanntlich in Wasser durch eine bei ca. 333 - 343 K (60 - 70 °C) stattfindende Fällung infolge Dehydratation auszeichnen. Bei 329 K (56 °C) war die Entfernung des Lösungsmittels Aceton durch Verdampfen innerhalb einer Stunde gewährleistet. Während der Ausfällung und dem anschließenden Abkühlen wurde die Suspension ständig auf dem Magnetrührer mit 200 UpM gerührt; vor der Lagerung der Suspensionen wurde der Wasserverlust ausgeglichen. Dann wurden die Präparate in dicht verschlossenen braunen Gläsern bei Raumtemperatur und bei 318 K (45 °C) gelagert.

Auswertung

Einzelne DTA-Untersuchungen des Suspensionsrückstandes nach Herstellung und Lagerung über einen Zeitraum von 2 Monaten ergaben, daß sich - ebenso wie bei Ausfällungen in reinem Wasser - ein dem Handelsprodukt vergleichbares Modifikationsgemisch aus Kristallform II und Iß gebildet hatte. Es trat somit auch hier kein Hydrat auf. Die nach dieser Herstellungstechnik gewonnene tensidfreie Suspension mit Kollidon® 17 zeigte fast keine Neigung zur Sedimentation, während BA in der Methocel® E5-Lösung absinkende Sedimentation aufwies. Beide Suspensionen waren gut redispergierbar.

Die mikroskopischen Untersuchungen lassen nun einen deutlichen Unterschied des Hilfsstoffzusatzes auf die Suspensionsqualität erkennen: In allen Fällen war eine Agglomerationsneigung der Partikeln zu beobachten. Sie war jedoch in den Methocel® E5-Suspensionen weniger ausgeprägt als bei Kollidon® 17-Zusatz. Auch die Teilchengrößenanalyse wies Methocel® E5 als wesentlich besseren Wachstumsinhibitor als Kollidon® 17 aus (s. Tab. 8).

Tab. 8 Teilchengrößenbestimmung von BA-Ausfällungen
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

Lagerungszeit BA-Probe	nach Herstellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	2 Mon (μm)	Redispergierbarkeit	Homogenität
BA in H ₂ O (1)	127,3	--	183,2	--	--	181	mäßig	schlecht
BA in PVP 17-Lösung (2) 1 : 4	34,2	63,5	108,3	137,2	130,3	139,1	gut	mäßig
BA in HPMC E5-Lösung (3) 1 : 2	10,1	10,8	11,8	13,9	14,1	12,9	gut	(gut)

PVP 17-Zusatz zum Fällungsmedium (2) führte zwar zu wesentlich kleineren Partikeln als beim Herstellungsprozeß des Handelsproduktes (1), ein Kristallwachstum konnte jedoch nicht wirksam verhindert werden.

HPMC E5-Suspensionen (3) ließen dagegen keine Partikelvergrößerungen erkennen.

Die Lagerungstemperatur hatte im Falle der so gewonnenen Suspensionen keinen signifikanten Einfluß auf die Qualität der Präparate.

Die hier vorgestellte verfahrenstechnische Operation zur Gewinnung einer feinpartikulären Suspension führte immer zur Ausbildung eines Modifikationsgemisches. Trotzdem kann der Einsatz von 1,2 % Methocel[®] E5 ein Kristallwachstum wirksam verhindern. Daher soll auch eine derartige Suspensionsherstellungstechnik bei der endgültigen Rezepturentwicklung diskutiert werden (s. Kapitel 6).

4.4.2. Sprühtrocknung von BA-Ausfällungen in Kolloidlösungen

Die in Kapitel 3.4.2.2 erwähnte Sprühtrocknung von kolloidfreien BA-Ausfällungen unmittelbar nach dem Fällungsprozeß hatte zu einer beträchtlichen Kristallgrößenverringerung (ca. 200 µm → 20 µm) geführt. Auch die Suspendierung dieser Partikeln in Wasser führte nicht zu so großen Teilchen, wie sie bei dem nicht sprühgetrockneten Ausfällungspräparat beobachtet wurden (vgl. Tab. 8 und Tab. 9, S. 160 und 163). Es sollte daher geprüft werden, ob – bei Ausfällungen in wässrigen Kolloidlösungen – der Sprühtrocknungsprozeß mit einer anschließenden Redispergierung des Pulvers in Wasser einen günstigen Einfluß auf die Teilchengrößenentwicklung und die Suspensionsqualität haben würde.

Diese Ausfällungen wurden in der unter 4.4.1 beschriebenen Weise hergestellt und die noch warmen Suspensionen bei ca. 323 K (50 °C) sofort sprühgetrocknet. Eingangs- und Ausgangstemperaturen im Mini Spray-Dryer lagen bei 433 K (160 °C) und 373 K (100 °C).

Polarisationsmikroskopisch waren bei den Sprühtrocknungsprodukten Kristallagglomerate zu erkennen, die teilweise von isotropen Hüllen von HPMC bzw. PVP umgeben waren. Nach der Suspendierung dieser Pulver in Wasser könnte eine Behinderung des Kristallwachstums durch die Hilfsstoffe erwartet werden.

Zur experimentellen Überprüfung dieser Annahme wurden

180 mg sprühgetrocknete Methocel[®] E5-Ausfällung (1+2)
bzw.
300 mg sprühgetrocknete Kollidon[®] 17-Ausfällung (1+4)

in jeweils 10 ml Wasser bei Zimmertemperatur unter Rühren dispergiert und in dicht verschlossenen Gefäßen insgesamt einen Monat gelagert.

Die resultierenden Suspensionen waren zunächst infolge starker Agglomeration sehr inhomogen. Dieser Effekt dürfte auf die verzögerte Auflösung der Kolloidbestandteile zurückzuführen sein. Dabei erwies sich PVP 17 dem HPMC E5 überlegen, da hier schon nach ca. 30 min. homogene, gut redispersierbare Suspensionen erhalten wurden, während die Produkte mit HPMC erst nach ca. 12 Stunden makroskopisch akzeptable Präparate ergaben.

Im mikroskopischen Bild konnte die homogene Verteilung der Einzelpartikeln im Falle der Zubereitungen mit PVP 17 weitgehend bestätigt werden. Bei der Suspension mit HPMC E5 war dagegen sowohl gegenüber den mit PVP als auch den früher beschriebenen Präparaten mit BA-Hydrat eine etwas stärkere Aggregationsneigung zu beobachten (s. Tab. 9).

Tab. 9 Teilchengrößenbestimmung von sprühgetrockneten
BA-Ausfällungen nach der Suspendierung in H_2O
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in μm)

Lagerungszeit BA-Ausfällung	nach Her- stellung (μm)	1 Tag (μm)	1 Wo (μm)	2 Wo (μm)	1 Mon (μm)	Redispersier- barkeit	Homogenität
BA in H_2O (1)	20,9	56,4	78,2	75,4	76,1	(gut)	schlecht
BA in PVP 17- Lösung (2) 1 : 4	10,9	35,8	52,4	51,9	56,7	gut	gut
BA in HPMC E5- Lösung (3) 1 : 2	11,5	20,2	19,7	20,6	20,4	(gut)	mäßig

Aus der Tabelle kann gleichfalls ersehen werden, daß Kollidon[®] 17 das Kristallwachstum offensichtlich nicht behinderte, während Methocel[®] E5 die Ausbildung größerer Kristalle weitgehend zu verhindern vermochte.

Gegenüber den reinen Ausfällungen in HPMC-Lösungen brachte die durch weitere, relativ aufwendige verfahrenstechnische Maßnahmen gekennzeichnete Methode keine Verbesserung der Suspensionsqualität, so daß auf ihren weiteren Einsatz verzichtet wurde.

Für Kollidon[®] 17-haltige Suspensionen konnten durch diese Herstellungstechnik zwar wesentliche Verbesserungen hinsichtlich Korngrößenverteilung und Homogenität der Suspension erzielt werden; jedoch war die Kristallwachstumsinhibition noch nicht ausreichend, um das Verfahren für eine BA-Kristallsuspension geeignet erscheinen zu lassen.

4.4.3. BA-Sprüheinbettungen in Kolloide

Bei der in Kapitel 3.4.4 beschriebenen Sprühtrocknung des reinen BA aus organischen Lösungsmitteln resultierte ein amorphes Produkt, das bei der Suspendierung in wässrigem Milieu zur Ausbildung langer BA-Hydratnadeln führte, die für den direkten Einsatz in Kristallsuspensionen ungeeignet sind.

Als weitere verfahrenstechnische Operation sollte nun noch die Sprüheinbettung in die beiden makromolekularen Substanzen vorgenommen werden.

Der Kolloidzusatz zur Sprühlösung könnte zur Ausbildung eines amorphen Produktes führen, das nach Einarbeitung in wässrige Systeme zwar auskristallisiert, aber ein Wachstum durch die Kolloide möglicherweise verhindert wird.

Zur Gewinnung der Sprüheinbettungen wurden zunächst jeweils 0,3 g BA mit 0,6 g Methocel[®] E5 bzw. 1,2 g Kollidon[®] 17 in 15 ml einer Mischung aus Chloroform und Methanol (7+3) gelöst. Anschließend wurden sie auf der Sprühtrocknungslaborapparatur bei 383 K (110 °C) Eingangs- und 358 K (85 °C) Ausgangstemperatur sprühgetrocknet. Die so gewonnenen hohlkugelartigen Sprüheinbettungen fielen als polarisationsmikroskopisch isotrope, röntgenamorphe Pulver an.

Für die Suspendierung in Wasser wurden

180 mg BA-Methocel[®] E5-Sprüheinbettung (1+2)
bzw.
300 mg BA-Kollidon[®] 17-Sprüheinbettung (1+4)

in 10 ml Wasser unter Rühren eingebracht und dann in dicht verschlossenen Gefäßen gelagert.

Diese Arbeitsweise führte zu der gewünschten Hydratausbildung, die durch DT-Analysen bestätigt werden konnte.

Beide Suspensionen neigten zur Agglomeration, die sich im Laufe der Lagerung noch verstärkte. V.a. bei der Präparation mit Kollidon® 17 konnte - bereits makroskopisch feststellbar - kein befriedigendes Ergebnis erzielt werden. Die Teilchengrößenanalysen bestätigten dann auch, daß das nadelartige Wachstum des Hydrates nicht zu verhindern war (s. Tab. 10). Für ein optimales Injektionspräparat wäre daher eine Naßmahlung unerläßlich.

Tab. 10 Teilchengrößenbestimmung von BA-Sprüheinbettungen nach der Suspendierung in H₂O
(Mittelwerte aus den Bestimmungen in µm)

Lagerungszeit Sprüheinbettung	nach Herstellung (µm)	1 Wo (µm)	Redispergierbarkeit	Homogenität
BA / PVP 17 1 / 4	20	133,0	(gut)	schlecht
BA / HPMC E5 1 / 2	20	115,1	(gut)	schlecht

4.5. Diskussion zur Eignung von Hilfsstoffen und Herstellungstechnik für BA-Kristallsuspensionen

Da keine BA-Kristallform bei der Dispergierung in reinem Wasser zu einer vertretbaren Kristallsuspension zur Injektion führt, mußten geeignete Hilfsstoffe und verfahrenstechnische Operationen gefunden werden, um zu guten und stabilen Präparaten zu gelangen. Als Entscheidungskriterien dienten dabei

- gute Benetzung der Partikeln
- homogenes, mikroskopisches Erscheinungsbild
- gute Redispergierbarkeit der Suspensionen
- kein Kristallwachstum.

Das eingesetzte Netzmittel Polysorbat 80 erwies sich in einer Konzentration von 0,1 % als gut geeignet, da es die hier angesprochenen Faktoren - mit Ausnahme der Redispergierbarkeit - günstig beeinflußte.

Von den eingesetzten Kolloiden erwies sich eine 1,2proz. Konzentration von Methocel[®] E5 (HPMC) in jedem Falle einer 2,4proz. Konzentration von Kollidon[®] 17 (PVP) überlegen.

Dies beweist abermals die Überlegenheit der Celluloseether gegenüber PVP, wie schon bei anderen Fragestellungen mit wasser-schwerlöslichen Arzneistoffen von verschiedenen Autoren unseres Arbeitskreises nachgewiesen wurde (5,16,48).

Bezüglich der Herstellungstechnik muß die eingesetzte Kristallform berücksichtigt werden:

- 1) Für das BA-Hydrat ist die Naßmahlung mit anschließender Dispergierung in 1,2proz. Methocel[®] E5-Lösung + 0,05 % Polysorbat 80 am besten geeignet.
- 2) Für das Modifikationsgemisch II + Iß (analog der Ausgangssubstanz H) erweist sich die Ausfällung von BA in 1,2proz. Methocel[®] E5-Lösung am günstigsten.

- 3) Alle weiteren eingesetzten BA-Formen, Modifikation Iß und amorphes Sprühprodukt, lassen sich nicht durch Hilfsstoffzusatz oder verfahrenstechnische Maßnahmen - wie Sprüheinbettung - stabilisieren. Allenfalls könnte nach der erfolgten Hydratbildung nach einer Naßmahlung wieder ein Produkt gemäß 1) gewonnen werden.
- 4) Eine Schmelzeinbettung von BA führt bei der Suspension in wässrigem Milieu zu keinem brauchbaren Ergebnis.

Nach allen bisher gewonnenen Erkenntnissen verspricht der Einsatz des im Verlauf dieser Arbeit neu aufgefundenen BA-Hydrates in einer Kristallsuspension ohne andere Betamethasonsalze oder -ester die günstigsten Prognosen.

5. Betrachtungen zur Löslichkeit verschiedener BA-Kristallformen

Verschiedene Modifikationen eines polymorphen Arzneistoffes können bekanntlich auch durch Löslichkeitsunterschiede gekennzeichnet sein. Von Problemen bei der Bestimmung der Sättigungslöslichkeit solcher Substanzen ist immer wieder berichtet worden (36,118,119).

Bei den Betrachtungen dieses Abschnittes soll daher die Frage untersucht werden, ob und in welchem Maße ein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit verschiedener BA-Formen und der Kristallwachstumstendenz besteht.

5.1. Modifikationsumwandlungen während der Suspen- dierung in Wasser

In Suspensionen liegt am Ende eines bestimmten Beobachtungszeitraumes bei definierten Temperaturen immer ein Gleichgewicht zwischen gelöstem Arzneistoff und dem Bodenkörper vor. Dieser als Sättigungslöslichkeit bezeichnete Zustand (36) kann bei polymorphen Substanzen u.U. für jede einzelne Modifikation nur schwer oder zum Teil überhaupt nicht bestimmbar sein, da sich möglicherweise über die gelöste Phase Modifikationsumwandlungen in eine andere Kristallform mit differierenden Lösungseigenschaften vollziehen.

Bei BA sind in der Tat Modifikationsumwandlungen bei der Iß-Form und der amorphen Substanz durch Hydratbildung, und bei Modifikationsgemischen ebenfalls partielle Veränderungen beobachtet worden (s. Tab. 3, S. 100). Die Bestimmung der Sättigungslöslichkeit eines solchen Gemisches bereitet besondere Schwierigkeiten.

Wenn man aber von der Annahme ausgeht, daß ein Kristallwachstum immer dann in Erscheinung tritt, wenn relativ hohe Konzentrationen in Lösung sind, müßte sich in den Suspensionen, die das stabile Hydrat enthalten, eine geringere BA-Konzentration in Lösung befinden.

5.2. Bestimmung des gelösten BA-Anteils in Suspensionen

Hierzu wurde zunächst die spezifische Extinktion $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ im Maximum der UV-Absorption einer wässrigen Lösung von 295 K (22 °C) bei 241 nm ermittelt. Die Bestimmungen mit einem Beckman-Spektralphotometer ergaben

$$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 333 \text{ bei } 295 \text{ K (22 °C)}.$$

5.2.1. Bestimmung der Löslichkeit von BA-Formen in wässrigen Suspensionen

Für den Einsatz von verschiedenen Modifikationen eines Wirkstoffes in Kristallsuspensionen ist es wichtig, die Löslichkeit der verwendeten Kristallform in der wässrigen Suspension zu kennen. Je höher hierbei die Löslichkeitswerte liegen, desto mehr muß bei Temperatursenkung mit Ausfällungen und damit auch mit Kristallwachstum gerechnet werden.

Nach den in Kapitel 4 durchgeführten Untersuchungen zur Kristallgrößenveränderung war bei allen Experimenten das Wachstum nach ca. 1 Woche beendet. Man konnte davon ausgehen, daß zu diesem Zeitpunkt das Gleichgewicht zwischen Lösung und Bodenkörper erreicht war.

Für die Bestimmung der Löslichkeit solcher Suspensionen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Von allen eingesetzten BA-Formen wurden jeweils 20 ml einer 0,6proz. Suspension - entsprechend dem geplanten Einsatz in der Arzneiform - hergestellt. Diese wurden in dicht verschlossenen braunen 25 ml-Gläsern eine Woche lang bei 295 K (22 °C) ± 1 K auf Magnetrührern mit 25 UpM bewegt. Danach wurden die Suspensionen filtriert und sofort die Extinktionen bei 241 nm spektralphotometrisch ermittelt. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

Tab. 11 Löslichkeit von BA-Formen

BA-Modifikation	Extinktion	Konzentration mg / 100 ml**
BA-Handelssubstanz (1)	1,600	4,805
BA-Hydrat (2)	1,355	4,07
BA-Iß *** (3)	1,384	4,156
BA-SD *** (4)	1,394	4,186

** Mittelwerte aus 3 Bestimmungen

*** Zum Zeitpunkt der Messung lag das Hydrat vor

Man erkennt einen deutlichen Löslichkeitsunterschied zwischen dem Modifikationsgemisch der Handelssubstanz H und dem BA-Hydrat. Die geringere Löslichkeit des Hydrates kann als weiteres Vorzugsmerkmal dieser Kristallform für den Einsatz in Kristallsuspensionen angesehen werden.

Die etwas höhere Löslichkeit des Hydrates, das aus der Iß-Form (3) und dem amorphen Sprühprodukt (4) entstanden ist, kann

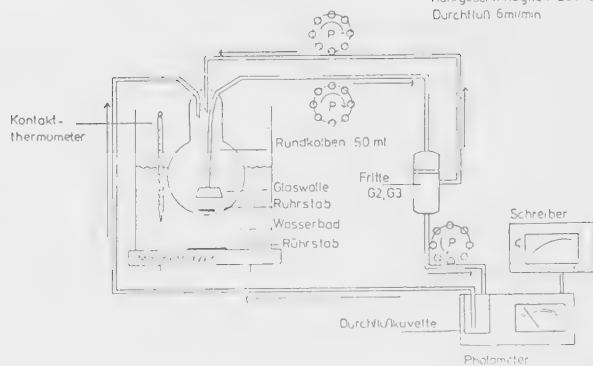
auf einer geringen Übersättigungsrate des Hydrates oder auf einem geringen Anteil der I β -Modifikation, unter der Prämisse einer höheren Löslichkeit, beruhen. Bei erhöhter Lagerungstemperatur von 318 K (45 °C) könnte auch eine bessere Löslichkeit des Hydrates resultieren. Das Kristallwachstum in bei diesen Temperaturen gelagerten Suspensionen (s. 4.3.3., S. 157) wäre somit ebenso durch ein Auskristallisieren aus übersättigten Lösungen zu erklären. Zur Bestimmung der Löslichkeit des Hydrates bei 318 K (45 °C) wurde daher eine in der eben beschriebenen Weise hergestellte 0,6proz. BA-Hydrat-Suspension 24 h unter gelegentlichem Umschwenken gelagert. Die Suspension wurde bei der gleichen Temperatur in eine vorgeheizte Küvette filtriert und die Extinktion bei 241 nm bestimmt. Es ergab sich eine Löslichkeit von 6,97 mg/100 ml.

5.2.2. Löslichkeitsprofile ausgewählter BA-Formen

Unter der Berücksichtigung der Tatsache, daß zumindest vorübergehend übersättigte Lösungen auftreten können, mußten zeitabhängige Löslichkeitsbestimmungen durchgeführt werden. Dazu wurde die von DÖLLE beschriebene Apparatur zur Bestimmung der Auflösungs geschwindigkeit (5) verwendet (Abb. 83). Sie gestattet, Löslichkeitsveränderungen kontinuierlich aufzuzeichnen, da im Umlaufsystem gearbeitet wird. Die Extinktionswerte werden dabei in einer Durchflußküvette im Spektralphotometer ermittelt. Partikuläre Bestandteile werden durch zweimalige Filtration (Glaswolle und Fritte) im Umlaufsystem zurückgehalten. Als Inkubationsmedium wurden 50 ml Wasser in einem 50 ml-Rundkolben vorgelegt und die Temperatur bei 295 K (22 °C) $\pm$ 1 K konstant gehalten. Von den verschiedenen BA-Proben wurden jeweils 300 mg im Auflösungsmedium suspendiert. Die Rührgeschwindigkeit im Wasserbad und im Inkubationsgefäß betrug 200 UpM. In Abbildung 84 sind die Löslichkeitsprofile dargestellt.

Freisetzungsmodell

Ruhrgeschwindigkeit 200 U/min
Durchfluß 6 ml/min



(P = Pumpe)

Abb. 83 Anordnung zur Ermittlung der Auflösungsgeschwindigkeit (nach (5))



Abb. 84 Löslichkeit verschiedener BA-Formen:

- | | |
|------------------------|----------------------|
| 1) BA-H | 3) BA-IB ——— |
| 2) amorphes BA - - - - | 4) BA-Hydrat - - - - |

Man kann daraus ableiten:

1. Das Ausgangsmaterial H hat die geringste Lösungsgeschwindigkeit, führt aber zur höchsten Sättigungskonzentration.
2. Das Hydrat ergibt bei hoher Lösungsgeschwindigkeit die niedrigste Sättigungskonzentration.
3. Amorphes BA und die I β -Form führen sehr rasch zu kurzfristig auftretenden höheren Konzentrationen, aus denen dann das Hydrat - bei Abwesenheit von Modifikation II (!) - auskristallisieren kann. Dafür spricht auch die gleiche Löslichkeit nach 6 h wie die des Hydrates.

Diese Resultate erlauben die Schlußfolgerung, daß amorphes und I β -BA eine - wenn auch nur temporär nachweisbare - höhere Löslichkeit aufweisen.

Durch die Löslichkeitsuntersuchungen konnte also bestätigt werden, daß mit dem BA-Hydrat die beste Kristallform für den Einsatz von BA in Kristallsuspensionen gefunden wurde.

6. Entwicklung einer BA-Kristallsuspension zur Injektion

Die Versuche zur Auffindung einer Basisrezeptur I für BA-Hydrat-Suspensionen führten zu folgendem Ergebnis:

B a s i s r e z e p t u r e n

I	BA	0,6 %
	Methocel® E5	1,2 %
	Polysorbat 80	0,05%
	H ₂ O ad inj.	ad 100,0 %

II	BA	0,6 %
	Methocel® E5	1,2 %
	H ₂ O ad inj.	ad 100,0 %

Dabei wurde das zunächst hergestellte Hydrat einer Naßmahlung unterzogen und in die Grundlage eingearbeitet. Sollte anstelle des Hydrates die Handelsform eingesetzt werden, so erwies sich die Ausfällung einer acetoneischen Lösung in eine 1,2 % HPMC E5-Lösung (→ Basisrezeptur II) unter den auf Seite 159 genannten Bedingungen als besonders geeignet, da durch diese Arbeitstechnik ein feinpartikuläres Produkt von $\sim 20 \mu\text{m}$ Teilchengröße anfiel.

6.1. Entwicklung der Suspensionsgrundlage

Diese Basisrezepturen sind als Grundlage für ein Injektionspräparat in dieser Form noch nicht geeignet, so daß Versuche zur galenischen Optimierung notwendig waren. Mit 7 mOsmol^{**} besitzen o.g. Lösungen keinerlei physiologische Tonizitätsverhältnisse.

^{**} Physiologische Kochsalzlösung hat bekanntlich 286 mOsmol.

Daher mußte eine geeignete Isotonisierungssubstanz zugesetzt werden. Auch eine Schlußsterilisation der fertigen Ampullen ist nicht möglich, da dann massives Nadelwachstum infolge thermischer Rekristallisation nicht zu verhindern ist. So mußte nach einem geeigneten Konservierungsmittelzusatz gesucht werden.

Isotonisierung

Celluloseetherhaltige Lösungen können zu verschiedenen Inkompatibilitäten mit Zusatzstoffen neigen, die dann zum Ausflocken führen. Hydroxypropylmethylcellulose ist in dieser Hinsicht im Gegensatz zu anderen Celluloseethern zumindest bei Elektrolytzusatz nur wenig gefährdet. Das für Parenteralia übliche Isotonisierungsmittel NaCl ist mit HPMC bis zu Konzentrationen von über 10 % NaCl in der Lösung kompatibel. Für die Bereitung der Suspensionsgrundlage stellte denn auch ein Zusatz von 0,8 % NaCl zur Isotonisierung kein Problem dar. Es resultierte eine Osmolalität von 253 mOsmol.

Konservierungsmittel

Die Auswahl des Konservierungsmittels erwies sich etwas problematischer. Von den für Injektabilia gebräuchlichen Substanzen waren o-Kresol und Benzylalkohol in den üblichen Dosierungen von 0,3 % bzw. 1 % nicht mit der Kolloidlösung kompatibel, da visuell erkennbare Trübungen auftraten. Benzalkoniumchlorid erwies sich in der für diese Substanz üblichen Konzentration von 0,02 % als potentiell geeignet. Dieses Konservierungsmittel wird auch für eine handelsübliche Kristallsuspension von BA mit Betamethasondinatriumphosphat verwendet (81).

In der Literatur gibt es zahlreiche Hinweise auf Wechselwirkungen organischer Kationen mit Cellulose und Cellulosederivaten (122-125). Diese hängen jedoch sowohl von der Art des Cellulosederivates als auch von dem eingesetzten kationischen Stoff ab. So sind Wechselwirkungen mit elektroneutralen Celluloseethern in geringerem Maße zu beobachten als z.B. mit Carboxymethylcellulose (125). Von den Konservierungsmitteln aus der Reihe der Invertseifen zeigen die Phenylalkylamine – wie hier eines zum Einsatz kommen sollte – die geringsten Wechselwirkungen (124). Daher wurden beim Einsatz von 0,02 % Benzalkoniumchlorid keinerlei Ausfällungen beobachtet. Auch die vom DAB 8 geforderte Sterilität für Injektabilia konnte mit diesem Konservierungsmittel immer erreicht werden.

Benzalkoniumchlorid verfügt außer seiner konservierenden Wirkung auch noch über Netzmitteleigenschaften. Daher konnte in der endgültigen Formulierung der Suspensionsgrundlage der Tensidanteil von Polysorbat 80 um eine Zehnerpotenz verringert werden. Als Rezeptur für BA-Kristallsuspensionen kann somit folgende Grundlage vorgeschlagen werden:

Basisrezeptur III

Methocel® E5	1,2 %
Polysorbat 80	0,005 %
Benzalkoniumchlorid	0,02 %
NaCl	0,8 %
H ₂ O	ad 100,0 %

Diese Rezeptur läßt mit einem pH-Wert von 6,2 und einer Osmolalität von 254 mOsmol auch eine gute Verträglichkeit erwarten. Auf den Zusatz eines Puffersystems wurde daher verzichtet. Die Viskosität der Lösung, die mittels eines Kapillarrisosimeters mit 2,007 mPa · s bestimmt wurde (293 K (20 °C)), läßt eine gute Applikationsfähigkeit der Lösung erwarten.

6.2. Einarbeitung bestimmter BA-Formen in die Grundlage

Vor der Ampullierung einer fertigen Kristallsuspension mußte noch überprüft werden, ob die günstigen Eigenschaften der BA-Hydratsuspension, die mit der Basisrezeptur I erzielt worden waren, durch den Zusatz von Benzalkoniumchlorid und NaCl nicht beeinträchtigt wurden. Außerdem sollte untersucht werden, ob die akzeptable Korngrößenverteilung der BA-Ausfällung in einer Methocel[®] E5-Lösung (Basisrezeptur II), wie sie in Kapitel 4.4.1. gefunden wurde, erhalten blieb. Ferner war zu prüfen, ob die in Basisrezeptur II beobachtete Agglomeration durch die erweiterte Rezeptur vermieden werden konnte.

Daher wurde nach der Herstellungsvorschrift in Abschnitt 4.3.1.1 (s. S. 147) das naßgemahlene Hydrat in die Suspensionsgrundlage III eingearbeitet. In einem weiteren Versuch wurde die Ausfällung von BA aus acetonischer Lösung direkt in die Suspensionsgrundlage III analog 4.4.1 vorgenommen.

Die resultierenden Suspensionen zeichneten sich makroskopisch durch gute Homogenität und Redispergierbarkeit aus. Im Polarisationsmikroskop betrachtet erwies sich die BA-Hydrat-Suspension III der Präparation mit der Basisgrundlage I sowohl in Homogenität als auch fehlender Neigung zu Kristallwachstum als durchaus ebenbürtig. Die Ausfällung von BA-H in der Suspensionsgrundlage III brachte keine Verbesserung gegenüber der Ausfällung in reiner Methocel[®] E5-Lösung (Basisrezeptur II) mit sich.

Für eine BA-Kristallsuspension ohne weitere Wirkstoffzusätze ist daher die Verarbeitung des naßgemahlenden Hydrates unter Einsatz der vollständig rezeptierten Grundlage III am besten geeignet.

Vergleichsversuche, die ohne Kolloidzusatz unter Verwendung von

Polysorbat 80

Puffersalzen

Sorbitol

Na-EDTA

anderen Konservierungsmitteln durchgeführt wurden, brachten keine Verbesserung der galenischen Qualität.

6.3. BA-Hydrat-Kristallsuspension

Für die gefundene Suspension mußte nun eine praxisgerechte Herstellungsvorschrift ausgearbeitet und die Qualität der Kristallsuspension abschließend überprüft werden.

6.3.1. Herstellungsvorschrift für die Suspension

Der Arbeitsprozeß zur Fertigung einer BA-Hydrat-Kristallsuspension gliedert sich in vier Abschnitte:

1. Gewinnung des Hydrates
2. Naßmahlung des Hydrates
3. Suspendierung des Hydrates in der Grundlage
4. Ampullierung der Suspension.

Dabei muß weitgehend unter aseptischen Bedingungen gearbeitet werden. Die verwendeten Arbeitsgeräte werden durch Hitzeinwirkung gemäß Verfahren A 121 oder H 180, DAB 8, sterilisiert und die Arbeitsschritte unter einem Laminar-Airflow durchgeführt. Ansatzgröße: 100 ml Suspension.

Gewinnung des Hydrates

Die Kristallsuspension enthält 6 mg BA/ml. 600 mg der feingepulverten Modifikation I β – gewonnen durch Tempern (60 min.) der Handelssubstanz H bei 443 K (170 °C) – werden in den Achatmörser der RETSCH-Mikroschnellmühle gegeben und mit 6 ml Aqua ad injehtabilia versetzt. Die Suspension wird in der Mahlgarnitur eine Minute lang mit einer Pistilldrehzahl von 20 Skalenteilen homogenisiert, wobei noch keine Zerkleinerung auf den gewünschten Feinheitsgrad von $\leq 20 \mu\text{m}$ erreicht wird. Zur vollständigen Ausbildung des Hydrates wird der Ansatz 24 Stunden lang unter gelegentlichem Umrühren in der Mahlgarnitur belassen.

Naßmahlung des Hydrates

Der eigentliche Mahlprozeß in der RETSCH-Mikroschnellmühle erfolgt bei Mörser- und Pistilldrehzahlen von 30 bzw. 40 Skalenteilen; die gewünschte Kornfeinheit wird in 10 Minuten erreicht.

Suspendierung des Hydrates in der Grundlage

Die endgültige Rezeptur der BA-Hydrat-Suspension lautet:

BA-Hydrat	624,2 mg $\hat{=}$ 600 mg BA
HPMC E5 in Form von Methocel [®] E5	1200 mg
Polysorbat 80 in Form von Tween [®] 80	5 mg
Benzalkoniumchlorid	20 mg
NaCl	800 mg
Aqua ad injektabilia	ad 100 ml

Zur Herstellung der Suspensionsgrundlage werden in einer 100 ml Infusionsflasche Polysorbat 80 (50 mg einer 10proz. Lösung), Benzalkoniumchlorid und NaCl in 90 ml heißem Aqua ad injektabilia gelöst. Methocel[®] E5 wird in dieser heißen Lösung dispergiert und unter Kaltrühren gelöst. Dieser Ansatz wird nach Verfahren A 121 DAB 8 sterilisiert. Das naßgemahlene Hydrat wird mittels der Suspensionsgrundlage quantitativ in einen 200 ml Erlenmeyerkolben überführt, mit Aqua ad inj. auf 100,63 g $\hat{=}$ 100 ml aufgefüllt und die Suspension mittels eines Magnetrührers in Bewegung gehalten.

Ampullierung der Suspension

Auf einer Strunck ASR C01 Ampullenmaschine wird die Suspension unter kontinuierlichem Rühren in farblose 2 ml-Aufbrennampullen unter N₂- Vor- und Nachbegasung abgefüllt. Die Ampullenmaschine ist dazu mit der reinen Suspensionsgrundlage einzustellen.

6.3.2. Prüfung der Suspension

Abschließend wird die galenische Qualität makroskopisch hinsichtlich Homogenität und mikroskopisch hinsichtlich Teilchengröße von max. 20 μm untersucht. Redispergierbarkeit, Viskosität, pH-Wert, Tonizität und Sterilität der Suspension werden geprüft. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tab. 12 Eigenschaften einer BA-Hydrat-Kristallsuspension

	Anforderung	gefunden
makroskopisch und mikroskopisches Erscheinungsbild	homogen/ dispers	entspricht
Teilchengröße	$\leq 20 \mu\text{m}$	13,4 μm
Redispergierbarkeit	1 x Umschütteln	entspricht
Viskosität	2,1-2,5 mPa·s	2,27 mPa·s
pH	6,8 - 7,2	6,9
Tonizität	255 - 315 mOsmol	265 mOsmol
Mikrobieller Status	Sterilität	steril

Nach diesen Ergebnissen, die auch nach dreimonatiger Lagerung nicht verändert waren, kann man eine in jeder Hinsicht gute Eignung für die Praxis erwarten. Die Herstellung und Verarbeitung der Suspension in größerem Maßstab dürfte keine Schwierigkeit darstellen.

7. Zusammenfassung

Das hochwirksame Corticosteroid Betamethasonacetat (BA) wird bisher in Injektionspräparaten nur mit dem gut wasserlöslichen Dinatriumsalz des Betamethasonphosphorsäureesters eingesetzt. Im Hinblick auf die Entwicklung einer stabilen BA-Kristallsuspension ad inj., die außer dem schwerlöslichen BA keine weiteren Wirkstoffe enthält, mußte zunächst die Charakterisierung des BA als polymorphes Steroid vorgenommen werden. In der Literatur sind bisher Angaben zu zwei Modifikationen von BA - I und II - zu finden, ohne daß Einzelheiten über die Gewinnung und das Verhalten bei galenisch relevanten Verarbeitungsprozessen mitgeteilt werden.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden drei Modifikationen von BA dargestellt und mit verschiedenen physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden, wie Differentialthermoanalyse, Röntgendiffraktometrie, Rasterelektronenmikroskopie, Polarisationsmikroskopie und Thermogravimetrie beschrieben. Außer dem Nachweis der drei kristallinen Modifikationen I α , I β und II, gelang die Darstellung eines BA-Hydrates sowie einer amorphen Form.

Die reine I α -Modifikation kann aus den organischen Lösungsmitteln Isopropanol, Aceton, Ethylmethylketon und Chloroform durch Abdunsten des Solvens bei 358 - 363 K (85 - 90 °C) gewonnen werden. Außerdem ist sie durch Tempern eines Modifikationsgemisches aus den Formen II und I α bei 443 K (170 °C) zu erhalten. Die reine I β -Modifikation wird in einfachster Weise durch Tempern der Handelssubstanz H - Modifikation II und I β - bei 443 K (170 °C) gewonnen. Sie stellt die thermodynamisch stabilste Form des BA dar und kann daher auch durch Tempern des amorphen Steroids oder des Hydrates bei dieser Temperatur dargestellt werden. Außerdem wird sie tribotrop aus der I α -Modifikation gebildet. Modifikation II des BA wird immer bei der Fällung von BA aus organischen Lösungsmitteln in Wasser erhal-

ten. Sie ist dabei nicht in reiner Form zu gewinnen, sondern daneben liegt immer mindestens eine der höher schmelzenden Modifikationen - $I\alpha$ oder $I\beta$ - zusätzlich vor. Lediglich nach der Naßmahlung der Handelssubstanz H und rascher Entfernung des Wassers im DTA-Tiegel kann man die Existenz der reinen Form II nachweisen. Amorphes BA ist durch Sprühtrocknung von geeigneten Lösungen zugänglich. Das bisher nicht beschriebene BA-Hydrat, das thermogravimetrisch als Monohydrat nachgewiesen wurde, kann nur aus der $I\beta$ -Modifikation in Wasser gebildet werden. Andere BA-Formen, wie Modifikation $I\alpha$ oder amorphes Material, ergeben erst nach Überführung in diese Modifikation das Hydrat in wässrigem Milieu. Modifikation II behindert dagegen die Ausbildung eines BA-Monohydrates.

Im Hinblick auf den Einsatz in Kristallsuspensionen interessierte vor allem die Stabilität der einzelnen BA-Formen. Dabei zeigte sich, daß sowohl das Ausgangsmaterial H als auch die reine $I\alpha$ -Modifikation und das BA-Hydrat in trockenem und wässrigem Milieu keine polymorphiebedingten Umwandlungen erfahren. Die reine $I\beta$ -Modifikation ist nur bei Lagerung der Trockensubstanz stabil. Bei trockener Lagerung des amorphen Sprühtrocknungsproduktes zeigte sich ein Unterschied zwischen den Produkten, die aus reinem Chloroform bzw. Chloroform/Methanol (7+3) erhalten wurden: Verwendet man reines CHCl_3 , so findet bereits bei Abwesenheit von Wasser eine Kristallisation statt. Bei Einsatz von $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ resultieren Sprühtrocknungsprodukte, in denen auch nach ca. drei Jahren keine Veränderungen festgestellt wurden.

Alle im Rahmen dieser Arbeit hergestellten BA-Formen können nicht unzerkleinert zu Kristallsuspensionen verarbeitet werden. Bei der notwendigen Trocken- bzw. Naßmahlung wandelt sich die stabile $I\alpha$ -Modifikation in die $I\beta$ -Form bzw. das Hydrat um. Dieses Monohydrat der $I\beta$ -Modifikation stellt somit die stabilste BA-Form für den Einsatz in Kristallsuspensionen dar.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte nun mit geeigneten Hilfsstoffen eine optimale BA-Kristallsuspension entwickelt werden. Hierfür wurde der Einfluß von Netzmittel und Kolloiden auf das Kristallwachstum und die Modifikationsumwandlungen geprüft. Weder Pölyisorbat 80 (0,1 %) noch Polyvinylpyrrolidon 17 (2,4 %) oder Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) E5 (1,2 %) vermögen dabei die Ausbildung von Kristallnadeln des BA-Hydrates aus der I β -Form zu verhindern. Bezüglich eines Kristallwachstums ist das BA-Hydrat in allen Fällen am stabilsten, was mit der geringsten Löslichkeit dieser Form erklärt werden kann. Polysorbat 80-Zusatz führt gegenüber tensidfreier wässriger Suspension zu keiner ungünstigen Beeinflussung des Wachstums. Die erhöhte Löslichkeit des BA-Hydrates bei 318 K (45 °C) und die damit verbundene Rekristallisation langer Hydratnadeln kann nur durch den Zusatz von HPMC E5 (1,2 %) zur Suspension wirksam verhindert werden. Verfahrenstechnische Maßnahmen, wie Verarbeitung einer BA-Schmelzeinbettung, einer BA-Sprüheinbettung oder einer Ausfällung von BA in wässrige Kolloidlösungen können für eine BA-Kristallsuspension ohne weitere Wirkstoffe nicht empfohlen werden.

Für diese Arzneiform ist der Einsatz des naßgemahlenen BA-Monohydrates unter Zusatz von HPMC E5 als Suspensionsstabilisator am besten geeignet. Weitere notwendige Hilfsstoffzusätze, wie NaCl zur Isotonisierung, Benzalkoniumchlorid zur Konservierung und Polysorbat 80 zur Benetzung, beeinträchtigen die Suspensionsqualität - auch nach Lagerung - nicht.

8. Anhang

8.1. Angewandte Methoden

8.1.1. Differentialthermoanalyse

Gerät: DTA-Apparatur: Mettler TA 2000 als Tieftemperaturausführung (98 - 823 K $\hat{=}$ -175 bis 550 °C).

Analysenbedingungen:

Heizrate: Wenn nicht anders angegeben 5 K/min.

Meßbereich: 100 μ V bei trockenen

1 mV bei wässrigen Proben

Probenbehälter: Aluminium-Tiegel, kaltverschweißt, 40 μ l, Deckel perforiert

Referenz: Aluminium-Tiegel, leer, Deckel perforiert

Spülgas: Stickstoff, nachgereinigt, 25 ml/min.

Einwaagen: 2 - 3 mg

Auswertung:

Datenspeicherung und -ausgabe über Calculator HP 9815, Kurvenzeichnung mit Plotter HP 7225A der Fa. Hewlett Packard.

8.1.2. Röntgendiffraktometrie

Gerät: Röntgenpulverdiffraktometer, Fa. Philips, Kassel, mit

Röntgengenerator PW 1730, Vertikalgoniometer PW 1050

Schrittmotor und Steuereinheit PW 1394
 Proportionalzählrohr PW 1965/60, Verstärker-
 einheit PW 1390 mit Impulshöhendiskriminator,
 Recorder PM 8203, Röntgenröhre PW 2233/20,
 Focus N, Anodenmaterial - Kupfer, Cu-K_{α} -
 Strahlung $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$

Sonderzubehör:

TTK-Röntgen-Vakuumkamera für mittlere und
 tiefere Temperaturen, Kat.Nr. 25100
 TTK-Heizregler, Kat.Nr. 25110
 Hersteller: Fa. A. Paar KG, A-Graz

Analysenbedingungen:

Anodenspannung	: 40 kV
Heizstrom	: 30 mA
Winkelgeschwindigkeit	: $0,05^{\circ} 20/s$ (step)
Filter	: Nickel im Primärstrahl
Aperturblende	: 1°
Zählrohrblende	: $1^{\circ}, 0,2 \text{ mm}$

Auswertung:

Mit Calculator HP 9815A in Verbindung mit
 Plotter HP 7225A bzw. Minc 11 der Fa. Digital
 Equipment + Plotter HP 7225A.

Zur Bestimmung kleiner Substanzmengen wurde
 der in Abbildung 85 dargestellte selbstgefer-
 tigte Einsatz in den Originalprobenträger ein-
 gelegt.

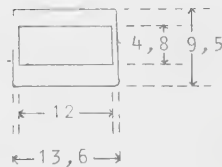


Abb. 85

Einsatz für Röntgen-
 probenträger (Abmes-
 sungen in mm)

8.1.3. Rasterelektronenmikroskopie

Gerät: Rasterelektronenmikroskop - Typ: Jeol JSM-U3 Scanning-Electron Microscope der Fa. Japan Electron Optics Laboratory Co. Ltd., Tokyo
 Sputter-Anlage: "Cool"-Sputter Coater, Modell E 5100 der Fa. Polaron Equipment Ltd., GB-Greenhill

Sputterbedingungen:

Glühkatode	:	Au
Heizstrom	:	1,5 mA
Spülgas	:	Argon
Besputterungsdauer	:	6 - 7 min. bei 13,3 Pa.

8.1.4. Polarisationsmikroskopie

Binokulare Forschungsmikroskope der Fa. Hertel und Reuss/Kassel.
 Superpan S-BIN-RKPO-DZ-POG/B-dpo-4031-7075 und
 Superpan S-BIN-RTG-DZ-POG/B-dpo-4031-7075 mit
 Mikroskopheiztisch 350 der Fa. Leitz/Wetzlar.

8.1.5. Infrarotspektroskopie

Gerät: Grating Infrared Spectrophotometer 457 der Fa. Perkin Elmer

Analysenbedingungen:

Scan Mode	:	medium
Meßtemperatur	:	295 K (22 °C)
Konzentration der Probe	:	0,5 % in KBr-Preßling

8.1.6. Thermogravimetrie

Gerät: Mettler-Thermoanalysenwaage HE 20,
Steuergerät BE 20

Analysenbedingungen:

Einwaage : ca. 50 mg
Heizrate : 5 K/min.
Meßbereich BE 20:0,1 g
Spülgas : Stickstoff (nachgereinigt) beim
Aufheizen (70 ml/min.)
Luft beim Abkühlen (70 ml/min.)

Aufzeichnung:

x-y-Schreiber Omnigraphic 2000 (Houston Texas)
Meßbereich x-Achse : 0,05 - 0,1 mV/cm
Meßbereich y-Achse : 5 mV/cm $\hat{=}$ 0,5 mg/cm

8.1.7. Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Geräte:

Säule: Hibar Lichrosorb[®] RP 18, 250 mm x 4 mm i.D.,
5 μ m
Pumpe: Altex, Modell 110 A
Spektralphotometer: Uvicon 720 LC

Analysenbedingungen:

Fließmittel: Acetonitril/Wasser 40:60
Durchflußrate: 1,5 ml/min.
Probenmenge: 100 μ l einer 0,01proz. methanolischen
Lösung drucklos über Rheodyne-Ventil
eingespritzt

Steuerung und Auswertung:

Minc 11 in Verbindung mit Plotter HP 7225A

Retentionszeiten:

BA: ~9 min. : 30 sec

Dexamethasonacetat: ~10 min. : 40 sec

8.1.8. Sprühtrocknung

Gerät: Büchi 190, Mini Spray Dryer mit Zweistoffdüse
0,8 mm Ø der Fa. Büchi, CH-Flawil.

Sprühbedingungen:

Eingangstemperatur: ca. 383 K (110 °C) bei organischen Lösungsmitteln
ca. 433 K (160 °C) bei wässrigen Suspensionen

Ausgangstemperatur: ca. 358 K (85 °C) bei organischen Lösungsmitteln
ca. 373 K (100 °C) bei wässrigen Suspensionen

Luftdurchsatz : ca. 650 Normliter/h

Pumpe : ca. 10 ml/min.

8.1.9. Mahlung

Gerät: RETSCH-Mörsermühle: Mikroschnellmühle Typ

MS, Best.Nr. 400

Achat-Mahlgarnitur 8 ml bzw. 0,5 ml

Mahlbedingungen:

Trockenmahlung: Mörserdrehzahl 50 Skalenteile
 Pistilldrehzahl 50 Skalenteile

Naßmahlung : Mörserdrehzahl 30 Skalenteile
 Pistilldrehzahl 40 Skalenteile

8.1.10. Löslichkeitsbestimmung

Geräte:

Freisetzungsmodell nach DÜLLE (5), s. S. 172

Spektralphotometer:

Beckman Instruments Modell 24 mit UV-Zusatzaus-
 rüstung, Sipper System und Schreiber

Analysenbedingungen:

UV-Detektion bei 241 nm

Durchflußrate bei Bestimmung der Löslichkeits-
 profile: 6 ml/min.

8.2. Verwendete Materialien

Aceton - Hoechst AG/Frankfurt/Main

Acetonitril - Merck/Darmstadt

Adipinsäure - Merck/Darmstadt

Benzalkoniumchlorid - Merck/Darmstadt

Benzylalkohol - Merck/Darmstadt

Bernsteinsäure - Merck/Darmstadt

Betamethasonacetat Charge DOH-7-JJ-5 (im Text auch mit dem Buch-
 staben "H" gekennzeichnet) - Werthenstein Chemie/Schachen,
 Schweiz

Chloroform - Hoechst AG/Frankfurt/Main
 Cyclohexan - Merck/Darmstadt
 Dexamethasonacetat Art.Nr. 1755 - Merck/Darmstadt
 Diethylether - Merck/Darmstadt
 Dimethylformamid - Merck/Darmstadt
 Dinatriumhydrogenphosphat - Merck/Darmstadt
 Ethanol - Bundesmonopolverwaltung
 Hydroxypropylmethylcellulose, Methocel[®] E5 - Dow Chemical GmbH/
 Stade-Brunshausen
 Isopropanol - Hedinger/Stuttgart
 Mannitol - Merck/Darmstadt
 Methanol - Bayer/Leverkusen
 Methylethylketon - Ferak/Berlin
 Methylenchlorid - Merck/Darmstadt
 Natrium-EDTA - Merck/Darmstadt
 Natriumchlorid - Merck/Darmstadt
 Natriumdihydrogenphosphat - Merck/Darmstadt
 o-Kresol - Merck/Darmstadt
 Polyethylenglykol 6000 - Hoechst AG/Frankfurt/Main
 Polyoxyethylen-Polyoxypropylen, Pluronic[®] F68 -
 C.H. Erbslöh/Düsseldorf
 Polysorbat 80, Tween[®] 80 - Atlas-Chemie/Essen
 Polyvinylpyrrolidon, Kollidon[®] 17 - BASF/Ludwigshafen
 Sorbitol - Merck/Darmstadt
 Tetrachlorkohlenstoff - Merck/Darmstadt

Literaturverzeichnis

- 1) Mc Crone Jr., W.C.,
"Fusion Methods in Chemical Microscopy", Interscience
Publishers, Inc., New York, N.Y. 1960, S. 285 - 378
- 2) Halebian, J., W. Mc Crone,
J. Pharm. Sci. 58, 911 (1969)
- 3) Burger, A.,
Acta Pharm. Technol. 28, 1 (1982)
- 4) Hoffmann, M., H. Krömer, R. Kuhn,
Polymeranalytik I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1977)
- 5) Dölle, B.,
Dissertation Erlangen 1981
- 6) Mitscherlich, E.,
Ann. chim. phys. 19, 350 (1821)
- 7) Wöhler, F., J. Liebig,
Am. Pharm. 3, 249 (1832)
- 8) Lix, H., K.-H. Gensch, G. Schenck,
Dtsch. Apoth. Ztg. 111, 1490 (1971)
- 9) Kuhnert-Brandstätter, M.,
Österr. Apoth. Ztg. 19, 297 (1959)
- 10) Kuhnert-Brandstätter, M.,
Pharm. Unserer Zeit 4, 131 (1975)
- 11) Thron, Th.M.,
Dissertation Marburg 1979
- 12) Aguiar, A.J., J. Krc, A.W. Kinkel, J.C. Samyn,
J. Pharm. Sci. 56, 847 (1967)

- 13) Guillot, B.R., A.P. Lombard,
The Suppository, Maloine S.A., éd., Paris (1973)
- 14) Carless, J.E., M.A. Moustafa, H.D.C. Rapson,
J. Pharm. Pharmacol. 20, 630 (1968)
- 15) Pearson, J.T., G. Varney,
J. Pharm. Pharmacol. 21, 60s (Suppl. 1969)
- 16) Muckenschnabel, R.,
Dissertation Erlangen 1983
- 17) Kuhnert-Brandstätter, M., P. Gasser,
Microchem. J. 16, 419 (1971)
- 18) Kuhnert-Brandstätter, M., P. Gasser,
Microchem. J. 16, 577 (1971)
- 19) Kuhnert-Brandstätter, M., P. Gasser,
Microchem. J. 16, 590 (1971)
- 20) Carless, J.E., M.A. Moustafa, H.D.C. Rapson,
J. Pharm. Pharmacol. 20, 639 (1968)
- 21) Kuhnert-Brandstätter, M., P. Gasser, P.D. Lark,
P. Linder, G. Kramer,
Microchem. J. 17, 719 (1972)
- 22) Mesley, R.J.,
Spectrochim. Acta 22, 889 (1965)
- 23) Kuhnert-Brandstätter, M., H. Grimm,
Mikrochim. Acta (1968) S. 115, 127
- 24) Gerst, F.,
Dissertation Erlangen 1979
- 25) Ballard, B.E., J.A. Biles,
Steroids 4, 273 (1964)

- 26) Weis-Fogh, O., C.F. Wiese,
Arch. Pharm. Chemi 71, 835 (1964)
- 27) Österreichisches Arzneibuch, 10. Ausgabe
Österreichische Staatsdruckerei Wien, 1981
- 28) Burger, A.,
Kurzfederat im Programmheft zum 24. Jahreskongreß der
APV, Forum Technologicum 1978
- 29) Schultze, D.,
Differentialthermoanalyse, Verlag Chemie, Weinheim (1969)
- 30) Krischner, H.,
Einführung in die Röntgenfeinstrukturanalyse,
Vieweg Verlagsges., Braunschweig 1974
- 31) Mc Carthy, G.J.,
Advances in X-Ray Analysis, Vol. 22, Plenum Press,
New York - London (1979)
- 32) Schenk, D.,
Acta Pharm. Technol. 25, 241 (1979)
- 33) Kofler, L. und A. Kofler,
Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und
Stoffgemische, Verlag Chemie, Weinheim 1954
- 34) Trivedi, J., J.W. Shell, J.A. Biles,
J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 48, 583 (1959)
- 35) Chapman, J.H., J.E. Page, A.C. Parker, D. Rogers,
C.J. Sharp, S.E. Staniforth,
J. Pharm. Pharmacol. 20, 418 (1969)
- 36) Kuhnert-Brandstätter, M., A. Burger,
Pharm. Ind. 34, 187 (1972)
- 37) Nürnberg, E., E. Graf,
Pharm. Unserer Zeit 3, 49 (1974)

- 38) Junginger, H.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 116, 1880 (1976)
- 39) Müller, B.W., Y. Beer,
Acta Pharm. Technol. 28, 97 (1982)
- 40) Carless, J.E., A.A. Forster,
J. Pharm. Pharmacol. 18, 697 (1966)
- 41) Ziller, K.H.,
Dissertation Regensburg 1982
- 42) Nürnberg, E., P. Kohl,
Pharm. Ztg. 124, 523 (1979)
- 43) Howard, S.A., J. Maugher, J.W. Hsieh, K. Amin,
J. Pharm. Sci. 68, 1475 (1979)
- 44) Simonelli, A.P., S.C. Mehta, W.I. Higuchi,
J. Pharm. Sci. 59, 633 (1970)
- 45) Mehta, S.C., P.D. Bernardo, W.I. Higuchi, A.P. Simonelli,
J. Pharm. Sci. 59, 638 (1970)
- 46) Higuchi, W.I., P.K. Lau,
J. Pharm. Sci. 51, 1081 (1962)
- 47) Kögel, J., W. Horsch,
Pharmazie 33, 738 (1978)
- 48) Kohl, P.,
Dissertation Erlangen 1979
- 49) Firmenschrift 23/9471/10/182 R der Fa. Merck, Darmstadt
Chromatographie in der pharmazeutischen Chemie, S. 9
- 50) Mullius, J.D., T.J. Macek,
J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 49, 245 (1960)
- 51) Deutsches Arzneibuch, 8. Ausgabe 1978

- 52) Sucker, H., P. Fuchs, P. Speiser,
Pharmazeutische Technologie, Thieme Verlag, Stuttgart 1978
- 53) Kuhnert-Brandstätter, M.,
Pharm. Ind. 39, 377 (1977)
- 54) Mesley, R.J., C.A. Johnson,
U. Pharm. Pharmacol. 17, 329 (1965)
- 55) Struhár, M., M. Chalabala, M. Mandák, M. Pauček, M. Hollá,
Acta Facultatis Pharmaceuticae, Bratislava, XXXV, 23 (1980)
- 56) Perrier, R., A. Chauvet, J. Massé,
Thermochim. Acta 44, 189 (1981)
- 57) Rogoff, J.M., G.N. Stewart,
Science 66, 327 (1927)
- 58) Fieser, L., M. Fieser,
Steroide, Verlag Chemie, Weinheim 1961
- 59) Fried, J., E.F. Sabo (1953),
zitiert nach (58)
- 60) Herzog, H.L., A. Nobile, S. Tolksdorf, W. Charney,
E.B. Hershberg, P.L. Perlman,
Science 121, 4184 (1955)
- 61) Bernstein, S., R.H. Lenhard, W.S. Allen, M. Heller,
R. Littell, S.M. Stolar, L.I. Feldmann, R.H. Blank,
J. Amer. chem. Soc. 78, 5693 (1956)
- 62) Fried, J., A. Borman, W.B. Kessler, P. Grabowich,
E.F. Sabo,
J. Amer. chem. Soc. 80, 2338 (1958)
- 63) Oliveto, E.P., R. Rausser, A.L. Nussbaum, W. Gebert,
E.B. Hershberg, S. Tolksdorf, M. Eisler, P.L. Perlman,
M.M. Pechet,
J. Amer. chem. Soc. 80, 4428 (1958)

- 64) Oliveto, E.P., R. Rausser, H.L. Herzog, E.B. Hershberg,
S. Tolksdorf, M. Eisler, P.L. Perlman, M.M. Pechet,
J. Amer. chem. Soc. 80, 6687 (1958)
- 65) Estler, C.J.,
Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakolo-
gie und Toxikologie, Schattauer-Verlag, Stuttgart - New
York 1983
- 66) Möllmann, H., C. Bigalke, K. Bestehorn, K.-P. Zwingmann,
M. Hüls, J. Kindler, E. Danners,
Therapiewoche 25, 5203 (1975)
- 67) Mutschler, E.,
Arzneimittelwirkungen, 4. Auflage, Wissenschaftl. Ver-
lagsges. mbH, Stuttgart 1981
- 68) Gross, R., V. Schulz,
Dtsch. Ärztebl. 78, 61 u. 129 (1980)
- 69) Fricke, U.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 123, 2255 (1983)
- 70) Liekfeld, H.,
in 318. Kurs der APV - Praxis der Arzneimittelinformation
V - Antirheumatika - Nürnberg 1983
- 71) Möllmann, H., G. Fund, C. Bigalke, H. Wagner,
Therapiewoche 29, 94 (1979)
- 72) Forth, W.,
Dtsch. Ärztebl. Ausgabe B, 80, Heft 44, S. 32 (1983)
- 73) Fincher, J.H.,
J. Pharm. Sci. 57, 1825 (1968)
- 74) Möllmann, H., C. Bigalke, A. Groß, H. Wagner,
Fortschr. Med. 95, 972 (1977)

- 75) Pharmacopoea Europaea, amtliche deutsche Ausgabe
Europäisches Arzneibuch, Band I 1974
(Band II 1976 / Band III 1978)
- 76) Böhme, H., K. Hartke,
Europäisches Arzneibuch I-II, Kommentar, 2. Auflage,
Wissenschaftl. Verlagsges. mbH, Stuttgart 1978
- 77) Wettstein, A.,
Helv. chim. Acta 27, 1803 (1944)
- 78) U.S. Pharmacopeia XX, National Formulary XV
United States Pharmacopeial Convention Inc. 1980
- 79) British Pharmacopeia 80
London Her Majesty's Stationery Office 1980
- 80) Reynolds, J.E.F. (Herausg.)
Martindale The Extra Pharmacopoeia
28. Auflage, The Pharmaceutical Press, London 1982
- 81) persönliche Mitteilung, Dr. Matter, Fa. Werthen-
stein Chemie, CH-Schachen
- 82) Burger, A.,
Pharm. Unserer Zeit 11, 177 (1982)
- 83) Wollmann, H., V. Braun,
Pharmazie 38, 5 (1983)
- 84) Burger, A.,
Sci. pharmac. 47, 16 (1979)
- 85) Graf, E., C. Beyer, O. Abdallah,
Acta Pharm. Technol. 25, 9 (1979)
- 86) Kuhnert-Brandstätter, M., D. Seidel,
Mikrochim. Acta (1982), S. 243

- 87) Bauer, K., H. Voegelé,
Pharm. Ind. 34, 960 (1972)
- 88) Müller, B.W.,
Arch. Pharmacol. 310, 693 (1977)
- 89) Burger, A., R. Ramberger,
Mikrochim. Acta (1979), S. 273
- 90) Nürnberg, E.,
Habilitationsschrift, Marburg (1970)
- 91) persönliche Mitteilung, Dr. Reich, Fa. Merck, Darmstadt
- 92) Dost, F.H.,
Grundlagen der Pharmakokinetik, Thieme Verlag, Stuttgart 1968
- 93) Higuchi, W.I., E.L. Rowe, E.N. Hiestand,
J. Pharm. Sci. 52, 162 (1963)
- 94) Anschel, J.,
Pharm. Ind. 27, 781 (1965)
- 95) Patel, M.S., P.H. Elworthy, A.K. Dewsnup,
J. Pharm. Pharmacol. 33, 64P (1981)
- 96) Singer, F., J. Gruber,
Aktuelle Rheumatologie 8, 105 (1983)
- 97) Junginger, H.,
Pharm. Ind. 39, 822 (1977)
- 98) Nürnberg, E.,
Pharm. Ind. 38, 74 (1976)
- 99) Nürnberg, E., E. Graf,
Pharm. Unserer Zeit 3, 1 (1974)

- 100) Junginger, H.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 116, 1880 (1976)
- 101) Lee, K.C., J.A. Hersey,
J. Pharm. Pharmacol. 29, 249 (1977)
- 102) Jones, R.N., P. Humphries, F. Herling, K. Dobriner,
J. Amer. Chem. Soc. 74, 2820 (1952)
- 103) Jones, R.N., A.R.H. Cole,
J. Amer. Chem. Soc. 74, 5648 (1952)
- 104) Hopp, A.,
Dissertation Erlangen 1981
- 105) Nürnberg, E., A. Werthmann,
Pharm. Ind. 40, 1061 (1978)
- 106) Kuntscher, H., F. Lorenz,
Pharm. Ind. 25, 503 (1963)
- 107) Anschel, J.,
Pharm. Ind. 27, 781 (1965)
- 108) Rawlins, D.A., J.B. Kayes,
J. Pharm. Pharmacol. 31, 50P (1979)
- 109) Hüttenrauch, R., U. Möller,
Pharmazie 38, 129 (1983)
- 110) Chapman, J.H., E.L. Neustadter,
J. Pharm. Pharmacol. 17, 138 S (1965)
- 111) Birner, F., K. Steiger-Trippi,
Acta pharm. Helv. 36, 495 (1961)
- 112) Bansal, N.P., E.M. Holleran, C.I. Jarowski,
J. Pharm. Sci. 72, 1079 (1983)

- 113) Hargreaves, B.J., J.T. Pearson, P. Connor,
J. Pharm. Pharmacol. 31, 47P (1979)
- 114) Heyer, K.,
Dissertation Berlin (1980)
- 115) Lukas, G.,
Mitt. Dtsch. Pharm. Ges. 27, 89 (1957)
- 116) Nürnberg, E.,
Pharm. Ind. 38, 228 (1976)
- 117) Walter, R.,
Acta pharm. Technol. 22, Suppl. 1, 17 (1976)
- 118) Higuchi, T., F.-M. L. Shih, T. Kimura, J.H. Rytting,
J. Pharm. Sci. 68, 1267 (1979)
- 119) Kuhnert-Brandstätter, M., A. Martinek,
Mikrochim. Acta (1965), S. 909
- 120) Homöopathisches Arzneibuch 1978
1. Nachtrag 1981
Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart 1981
- 121) Heller, H.U.,
Dissertation in Vorbereitung
- 122) Ullmann, E., L. Mansel,
Pharm. Ind. 36, 730 (1974)
- 123) Lippold, B.C., L. Mansel, E. Ullmann,
Pharm. Ind. 37, 100 (1975)
- 124) Ullmann, E., L. Mansel, P. Mohrschulz,
Acta pharm. Technol. 20, 1 (1974)
- 125) Ullmann, E.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 115, 1240 (1975)

LEBENS LAUF

Name	Seiller, <u>Erhard</u> Josef Maria
15.06.1954	Geboren in Bamberg als erstes Kind der Eheleute Josef Seiller und Frau Kunigunde, geb. Kugel
1960 - 1964	Besuch der Luitpold-Volksschule in Bamberg
1964 - 1973	Besuch des humanistischen Kaiser-Heinrich-Gymnasiums in Bamberg
1973	Abitur am Kaiser-Heinrich-Gymnasium
1973 - 1978	Studium der Pharmazie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
1976	Erster Prüfungsabschnitt nach der Approbationsordnung für Apotheker
1978	Zweiter Prüfungsabschnitt nach der Approbationsordnung für Apotheker
1978 - 1979	Pharmaziepraktikant in der Sonnenapotheke in Herzogenaurach
seit 1980	Doktorand bei Herrn Prof. Dr. E. Nürnberg am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie der Friedrich-Alexander-Universität
1980	Pharmazeutische Staatsprüfung in München Erhalt der Approbation als Apotheker
seit 1980	Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten
1983	Eheschließung mit der Diplom-Bibliothekarin Annette Niedenführ.

